

**T.C.  
İNÖNÜ ÜNİVERSİTESİ  
TIP FAKÜLTESİ**

**KLİNİK BİYOKİMYA ANALİTLERİNE AİT  
REFERANS ARALIKLARIN NUMUNE KABUL  
ZAMANINA GÖRE İNDİREKT YÖNTEMLE TESPİTİ**

**UZMANLIK TEZİ**

**Dr. Mehmet GÜNGÖR  
TIBBİ BİYOKİMYA ANABİLİM DALI**

**TEZ DANIŞMANI  
Yrd.Doç. Dr. Ahmet ÇIĞLI**

**MALATYA-2011**

**T.C.  
İNÖNÜ ÜNİVERSİTESİ  
TIP FAKÜLTESİ**

**KLİNİK BİYOKİMYA ANALİTLERİNE AİT  
REFERANS ARALIKLARIN NUMUNE KABUL  
ZAMANINA GÖRE İNDİREKT YÖNTEMLE TESPİTİ**

**UZMANLIK TEZİ**

**Dr. Mehmet GÜNGÖR  
TIBBİ BİYOKİMYA ANABİLİM DALI**

**TEZ DANIŞMANI  
Yrd.Doç. Dr. Ahmet ÇIĞLI**

**MALATYA-2011**

## ONAY SAYFASI

## ÖZET

Klinik laboratuvar testlerine ait referans aralıkların eldesi her klinik laboratuvarın tek başına üstesinden geleceği bir iş değildir. Direkt örnekleme yönteminin zorluğu, yüksek maliyeti ve bazen mümkün olamaması sebeplerinden dolayı indirekt yolla referans aralık tespiti rağbet görmektedir.

Bu çalışma 01.01.2009 - 01.01.2010 tarihleri arasında laboratuvarımıza gelen hasta numunelerinin toplam 14 analitin sonuçlarından oluşan verinin laboratuvar bilgi sisteminden transferi yoluyla referans aralıkların indirekt ve aposteriori şekilde tespit edildiği bir çalışmadır. Nihai manada referans aralık tespiti özel manada ise numune kabul zamanına göre referans aralık tespitinin yapıldığı çalışmamız indirekt örnekleme yoluyla referans aralıkları belirleme çalışmaları arasında numune kabul zamanını alt gruplandırma faktörü olarak kabul eden bir çalışmadır. Çalışmamıza dahil edilen toplam 14 analitin 7'si diurnal ritim göstermektedir. 14 analit içinde serum demir, TSH, total kalsiyum, inorganik fosfor, prolaktin ve total kortizol analitleri için kan alma zamanları arasında anlamlı farklılıklar tespit edildi ( $p<0,05$ ). Bu analitlerden serum total kalsiyum analiti hariç diğer 5 analitin her birisi için belirli kan alma zamanlarına özel referans aralıklar tespit edildi. Her bir analit için elde ettiğimiz referans aralıkları direkt yöntem, indirekt yöntem, referans kitaplardan transfer ve kit prospektüslerden transfer yoluyla elde edilen referans aralıkları ilgili analitin referans değişim değerlerine (RCV) göre kıyasladık. Kıyaslama sonucunda çoğu durumda indirekt yöntem referans aralıklarımız diğer yöntemlerin referans aralıklarından anlamlı olarak farklı olduğunu gördük. Ancak serum TSH, total kalsiyum, inorganik fosfor, PTH, folat, için tespit ettiğimiz referans aralıkları diğer yöntem referans aralıkları arasında anlamlı fark görülmemiştir. Kit prospektüs ve referans kitaplardan transfer yöntemleriyle elde edilen referans aralıklarının her bir analit için referans alınamayacağını ortaya koyan çalışmamız referans aralığı etkileyen preanalitik aşama faktörlerin önemini vurgulamıştır.

Çalışmada uyguladığımız indirekt örnekleme yöntemi, tamamlayıcı ve doğrulayıcı bir yöntemdir. Referans aralığı verilmemişse veya verilen rakamlar yeterli bulunmazsa hastane analiz kayıtları kullanılarak normal değerler elde

edilebilir. Ancak, direkt 6rnekleme y6nteminin yerine ge7ecek bir y6ntem değildir. Gelecekte bu y6ntemin 6zellikle u7 değer analizi ve alt gruplandırma olmak 6zere t6m aşamalarıyla daha standart hale getirilmesi gerektiği ř6phesiz klinik laboratuvarlar i7in 6nemlidir.

**Anahtar kelimeler:** referans aralık tespiti, indirekt 6rnekleme y6ntemi, numune kabul zamanı, RCV.

## SUMMARY

The establishment of reference intervals of clinical laboratory tests performed in is not possible for all clinical laboratories. Indirect estimation of reference intervals is being popular over direct methods which are time-consuming, expensive and sometimes not feasible for resource-limited laboratories.

This study tries to establish (in a indirect, nonrandom and a posteriori mode) reference intervals of total of 14 clinical chemistry analytes measured in serum specimens of patients who were in our medical center as outpatients between 2009 and 2010 years. This is the first study which describes the time of sample drawing as a subgrouping factor in establishment of reference intervals indirectly. The aim of this study is at last establishment of local reference intervals in Malatya Province with special emphasis on establishment of reference intervals partitioned with sampling time. The analytes which were incorporated in our study were having diurnal rithm ones with a total of 7 analytes and remaining ones which are not associated with diurnal rithm in scientific literature. Six of them namely serum iron, TSH, total calcium, inorganic phosphate, prolactin, and total cortizol had a significant difference between their means of different sampling times. Except for serum total calcium we determined certain reference intervals based on these sampling times ( $p < 0,05$ ). In addition we compared all of newly establish reference intervals with reference intervals which are originated from direct methodologies, reference books and manufacturer recommendations by using analyte-specific reference change values (RCVs). For most analytes, there were significant differences between our reference limits and other methods'limits. But for some analytes such as TSH, total calcium, inorganic phosphate, PTH, folate, there were no significant differences between lower and upper reference limits. Our study underlines the importance of preanalytical factors in establishing reference intervals and lets us to understand that transferring reference intervals of manufacturer-based or reference book-based is not always a true reference.

Currently, indirect establishment of reference intervals in clinical laboratories which has not yet accepted beyond just complemantary, confirmative, or corrective

properties is not replaced with direct methods. Making indirect methods more standardized in the issues of outlier detection and subgrouping and more applicable is compulsory for future.

**Key words:** Establishment of Reference Intervals, Indirect Sampling Techniques, Sampling Time, RCV.

## TEŞEKKÜR

Tez çalışmalarımı başladığım günden bitinceye kadar yardımlarını esirgemeyen Yrd. Doç. Dr. Ahmet Çıgılı'ya ve Prof. Dr. İsmail Temel'e teşekkür ederim. Ayrıca, bilgi ve deneyimlerinden faydalandığım Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı öğretim üyelerinden Prof. Dr. Yusuf Türköz, Prof. Dr. Tayfun Güldür, Prof. Dr. Elif Özerol, Doç. Dr. Çağatay Taşkapan, Doç. Dr. Aysun B. Karabulut'a ve Biyoistatistik Anabilim Dalı öğretim üyesi Doç. Dr. Cemil Çolak'a teşekkürlerimi arz ederim.

Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalımızda birlikte çalıştığımız Araştırma görevlileri Dr. Ercan Aluç, Dr. Ömer Özer, Araş. Gör. Önder Oflu ve Araş. Gör. Gül Temelli'ye, klinik biyokimya laboratuvar çalışanlarına ve Turgut Özal Tıp Merkezi laboratuvar bilgi sistemleri (LİS) görevlisi Remzi Köksal'a katkılarından dolayı teşekkür ederim.



## İÇİNDEKİLER

<b>İÇİNDEKİLER.....</b>	<b>VII</b>
<b>ŞEKİLLER DİZİNİ .....</b>	<b>X</b>
<b>TABLolar DİZİNİ.....</b>	<b>XII</b>
<b>KISALTMALAR DİZİNİ.....</b>	<b>XV</b>
<b>1. GİRİŞ.....</b>	<b>1</b>
<b>2. GENEL BİLGİLER.....</b>	<b>3</b>
2. 1. Referans Aralığın Tanımı.....	3
2. 2. Referans Aralık Çeşitleri.....	4
2.2.1. Kişisel Referans Aralıkları.....	4
2.3. Referans Aralığı Etkileyebilen Faktörler.....	5
2.3.1. Preanalitik Faktörler.....	5
2.3.1.1. Biyolojik Varyasyon.....	6
2.3.1.2. Döngüsel Varyasyon.....	8
2.3.1.3. Diurnal Varyasyon.....	8
2.3.1.4. Ultradian Varyasyon.....	8
2.3.1.5. İnfradian Varyasyon.....	9
2.3.2. Analitik Faktörler.....	10
2.3.3. Referans Değişim Değeri.....	10
2.4. Referans Aralığın Tespiti.....	12
2.4.1. Direkt Yöntem.....	12
2.4.1.1. Direkt Yöntem Protokolü.....	13
2.4.1.2. Referans Şahısların Seçimi.....	14
2.4.1.3. İstatistik.....	15
2.4.1.3.1. Uç Değerler .....	16
2.4.1.3.2. Alt gruplandırma.....	18
2.4.2. İndirekt Yöntem.....	19
2.4.2.1. Kullanıldığı Durumlar.....	19
2.4.2.2. İndirekt Yöntem Protokolü.....	20
2.4.2.3. Referans Verisinin Seçimi.....	20

2.4.2.4. İstatistik.....	21
2.4.2.4.1 İndirekt Örneklemede Kullanılan İstatistiki Yöntemler..	22
2.4.3. Referans Aralık Transferi.....	22
2.5. Klinik Laboratuvarlarda Kullanılan Referans Aralıkların Kökeni.....	24
2.6. Referans Aralık Tespit Yöntemlerinin Mukayesesi.....	26
2.7. Referans Aralığın Sunumu.....	27
<b>3. GEREÇ VE YÖNTEMLER.....</b>	<b>29</b>
3.1. Katılımcılar ve Verilerin Eldesi.....	29
3.2. Kullanılan Cihazlar ve Metodlara Dair Teknik Bilgiler.....	29
3.3. Kalite Kontrol.....	30
3.4. İstatistiki Analizler.....	31
<b>4. BULGULAR.....</b>	<b>33</b>
4.1. Serum Demiri.....	33
4.2. Serum Demir Bağlama Kapasitesi.....	36
4.3. Serum Ferritini.....	38
4.4. Serum TSH.....	40
4.5. Serum Serbest T <sub>3</sub> .....	43
4.6. Serum Serbest T <sub>4</sub> .....	45
4.7. Serum Magnezyumu.....	46
4.8. Serum Total Kalsiyumu.....	48
4.9. Serum İnorganik Fosforu .....	49
4.10. Serum Parathormonu.....	52
4.11. Serum Vitamin B12.....	54
4.12. Serum Folat.....	55
4.13. Serum Prolaktini.....	57
4.14. Serum Total kortizolu.....	58
<b>5. TARTIŞMA.....</b>	<b>62</b>
5.1. Referans Aralık ve İndirekt Örnekleme Yöntemi.....	62
5.2. Döngüsel Varyasyon ve Referans Aralık.....	63
5.3. Çalışmada Değerlendirilen Analitler.....	64
5.3.1. Serum Demiri.....	64
5.3.2. Serum Demir Bağlama Kapasitesi.....	67

5.3.3. Serum Ferritini.....	68
5.3.4. Serum TSH.....	70
5.3.5. Serum Serbest T <sub>3</sub> .....	72
5.3.6. Serum Serbest T <sub>4</sub> .....	74
5.3.7. Serum Magnezyumu.....	76
5.3.8. Serum Total Kalsiyumu.....	78
5.3.9. Serum İnorganik Fosforu .....	80
5.3.10. Serum Parathormonu.....	81
5.3.11. Serum Vitamin B12.....	83
5.3.12. Serum Folat.....	85
5.3.13. Serum Prolaktini.....	87
5.3.14. Serum Total kortizolu.....	89
5.4. Çalışmamızın Kısıtlamaları.....	91
<b>6. SONUÇ ve TAVSİYELER.....</b>	<b>93</b>
<b>7. KAYNAKLAR.....</b>	<b>96</b>

## ŞEKİLLER DİZİNİ

<b>Şekil 1:</b> Referans popülasyonu, referans numune grubu, referans değerler, referans dağılımı, referans limitleri ve referans aralık kavramları.....	3
<b>Şekil 2:</b> Ultradian varyasyon ve diurnal varyasyonun plazma hormon düzeylerine olan etkisi.....	9
<b>Şekil 3:</b> Serum demir analiti için yapılan uç değer analizi.....	33
<b>Şekil 4:</b> Erkeklerde serum demir düzeylerinin farklı yaş alt gruplarında numune kabul zamanları arasındaki anlamlı farklılık.....	35
<b>Şekil 5:</b> Bayanlarda serum demir düzeylerinin farklı yaş alt gruplarında numune kabul zamanları arasındaki anlamlı farklılık.....	35
<b>Şekil 6:</b> Erkeklerde serum TSH düzeylerinin farklı yaş alt gruplarında numune kabul zamanları arasındaki anlamlı farklılık.....	42
<b>Şekil 7:</b> Bayanlarda serum TSH düzeylerinin farklı yaş alt gruplarında numune kabul zamanları arasındaki anlamlı farklılık .....	42
<b>Şekil 8:</b> Erkeklerde serum inorganik fosfor düzeylerinin farklı yaş alt gruplarında numune kabul zamanları arasındaki anlamlı farklılık. ....	51
<b>Şekil 9:</b> Bayanlarda serum inorganik fosfor düzeylerinin farklı yaş alt gruplarında numune kabul zamanları arasındaki anlamlı farklılık. ....	51
<b>Şekil 10:</b> Erkeklerde serum total kortizol düzeylerinin farklı yaş alt gruplarında numune kabul zamanları arasındaki anlamlı farklılık.....	60
<b>Şekil 11:</b> Bayanlarda serum total kortizol düzeylerinin farklı yaş alt gruplarında numune kabul zamanları arasındaki anlamlı farklılık.....	60
<b>Şekil 12:</b> Erkekler için serum demirinin farklı yöntemlerden elde edilen referans aralıkları.....	65
<b>Şekil 13:</b> Bayanlar için serum demirinin farklı yöntemlerden elde edilen referans aralıkları.....	65
<b>Şekil 14:</b> Erkek ve bayanlarda SDBK için farklı yöntemlerden elde edilen referans aralıklar.....	67
<b>Şekil 15:</b> Erkeklerde serum ferritin için farklı yöntemlerden elde edilen referans aralıklar.....	69
<b>Şekil 16:</b> Bayanlarda serum ferritin için farklı yöntemlerden elde edilen referans aralıklar.....	69

<b>Şekil 17:</b> Erkek ve bayanlarda serum TSH için farklı yöntemlerden elde edilen referans aralıklar. ....	71
<b>Şekil 18:</b> Erkek ve bayanlarda serum serbest T <sub>3</sub> için farklı yöntemlerden elde edilen referans aralıklar. ....	73
<b>Şekil 19:</b> Erkek ve bayanlarda serum serbest T <sub>4</sub> için farklı yöntemlerden elde edilen referans aralıklar. ....	75
<b>Şekil 20:</b> Erkek ve bayanlarda serum magnezyumu için farklı yöntemlerden elde edilen referans aralıklar. ....	77
<b>Şekil 21:</b> Erkek ve bayanlarda serum total kalsiyumu için farklı yöntemlerden elde edilen referans aralıklar. ....	79
<b>Şekil 22:</b> Erkek ve bayanlarda serum inorganik fosforu için farklı yöntemlerden elde edilen referans aralıklar. ....	80
<b>Şekil 23:</b> Erkek ve bayanlarda serum parathormonu için farklı yöntemlerden elde edilen referans aralıklar. ....	82
<b>Şekil 24:</b> Erkek ve bayanlarda serum vitamin B <sub>12</sub> için farklı yöntemlerden elde edilen referans aralıklar. ....	84
<b>Şekil 25:</b> Erkek ve bayanlarda serum folat için farklı yöntemlerden elde edilen referans aralıklar. ....	86
<b>Şekil 26:</b> Erkeklerde serum prolaktini için farklı yöntemlerden elde edilen referans aralıklar. ....	88
<b>Şekil 27:</b> Bayanlarda serum prolaktini için farklı yöntemlerden elde edilen referans aralıklar. ....	88
<b>Şekil 28:</b> Erkek ve bayanlarda serum total kortizolu için farklı yöntemlerden elde edilen referans aralıklar. ....	90

## TABLOLAR DİZİNİ

<b>Tablo 1:</b> Bazı analitlerin biyolojik varyasyon değerleri.....	7
<b>Tablo 2:</b> Bazı analitlerin referans değişim değerleri.....	11
<b>Tablo 3:</b> Referans aralıkların direkt yöntemle tespit edilmesine dair protokol...	13
<b>Tablo 4:</b> Referans Aralıkların İndirekt Yöntemle Tespit Edilmesine Dair Protokol.....	20
<b>Tablo 5:</b> İndirek yöntemde referans verisinin seçiminde etkili olan bazı faktörler .....	21
<b>Tablo 6:</b> Q-Probes çalışmasına katılan laboratuvarların referans aralıkları elde etme yöntemleri.....	25
<b>Tablo 7:</b> Q-Probes çalışmasına katılan laboratuvarların referans aralık tespitinde kullandığı sağlıklı denek sayısı .....	26
<b>Tablo 8:</b> Çalışmada kullanılan klinik laboratuvar analizörleri ve çalışılan analitler ve yöntemleri.....	30
<b>Tablo 9:</b> Serum demir düzeyi ( $\mu\text{g}/\text{dL}$ ) belirlenen kişi sayısı ve ortanca değerleriyle birlikte cinsiyet, numune kabul saatleri ve yaş grupları arasında karşılaştırmalar ve ilgili p değerleri .....	34
<b>Tablo 10:</b> Serum demirine ( $\mu\text{g}/\text{dL}$ ) ait indirekt yöntemle elde edilen referans aralıklar .....	36
<b>Tablo 11:</b> Serum SDBK düzeyi ( $\mu\text{g}/\text{dL}$ ) belirlenen kişi sayısı ve aritmetik ortalama değerleriyle birlikte cinsiyet, numune kabul saatleri ve yaş grupları arasında karşılaştırmalar ve ilgili p değerleri.....	37
<b>Tablo 12:</b> SDBK ( $\mu\text{g}/\text{dL}$ ) için indirekt yöntemle elde edilen referans aralıklar..	38
<b>Tablo 13:</b> Serum ferritin düzeyi ( $\mu\text{g}/\text{L}$ ) belirlenen kişi sayısı ve aritmetik ortalama değerleriyle birlikte cinsiyet, numune kabul saatleri ve yaş grupları arasında karşılaştırmalar ve ilgili p değerleri .....	39
<b>Tablo 14:</b> Serum ferritine ( $\text{uq}/\text{L}$ ) ait indirekt yöntemle elde edilen referans aralıklar.....	39
<b>Tablo 15:</b> Serum TSH düzeyi ( $\text{IU}/\text{mL}$ ) belirlenen kişi sayısı ve ortanca değerleriyle birlikte cinsiyet, numune kabul saatleri ve yaş grupları arasında karşılaştırmalar ve ilgili p değerleri. ....	41

<b>Tablo 16:</b> Serum TSH (IU/mL)'ya ait indirekt yöntemle elde edilen referans aralıklar.....	43
<b>Tablo 17:</b> Serum serbest T <sub>3</sub> düzeyi (pg/mL) belirlenen kişi sayısı ve aritmetik ortalama değerleriyle birlikte cinsiyet, numune kabul saatleri ve yaş grupları arasında karşılaştırmalar ve ilgili p değerleri.....	44
<b>Tablo 18:</b> Serum serbest T <sub>3</sub> (mg/dL) için indirekt yöntemle elde edilen referans aralıklar.....	44
<b>Tablo 19:</b> Serum serbest T <sub>4</sub> düzeyi (pg/mL) belirlenen kişi sayısı ve aritmetik ortalama değerleriyle birlikte cinsiyet, numune kabul saatleri ve yaş grupları arasında karşılaştırmalar ve ilgili p değerleri.....	45
<b>Tablo 20:</b> Serum serbest T <sub>4</sub> (mg/dL) için indirekt yöntemle elde edilen referans aralıklar.....	46
<b>Tablo 21:</b> Serum magnezyum düzeyi (mg/dL) belirlenen kişi sayısı ve ortanca değerleriyle birlikte cinsiyet, numune kabul saatleri ve yaş grupları arasında karşılaştırmalar ve ilgili p değerleri.....	47
<b>Tablo 22:</b> Serum magnezyumuna (mg/dL) ait indirekt yöntemle elde edilen referans aralıklar.....	47
<b>Tablo 23:</b> Serum total kalsiyum düzeyi (mg/dL) belirlenen kişi sayısı ve ortanca değerleriyle birlikte cinsiyet, numune kabul saatleri ve yaş grupları arasında karşılaştırmalar ve ilgili p değerleri.....	48
<b>Tablo 24:</b> Serum total kalsiyumuna (mg/dL) ait indirekt yöntemle elde edilen referans aralıklar.....	49
<b>Tablo 25:</b> Serum inorganik fosforu düzeyi (mg/dL) belirlenen kişi sayısı ve ortalama değerleriyle birlikte cinsiyet, numune kabul saatleri ve yaş grupları arasında karşılaştırmalar ve ilgili p değerleri.....	50
<b>Tablo 26:</b> Serum inorganik fosforuna (mg/dL) ait indirekt yöntemle elde edilen referans aralıklar.....	52
<b>Tablo 27:</b> Serum parathormonu düzeyi (pg/mL) belirlenen kişi sayısı ve aritmetik ortalama değerleriyle birlikte cinsiyet, numune kabul saatleri ve yaş grupları arasında karşılaştırmalar ve ilgili p değerleri.....	53

<b>Tablo 28:</b> Serum parathormon (pg/mL) için indirekt yöntemle elde edilen referans aralıklar.....	53
<b>Tablo 29:</b> Serum vitamin B <sub>12</sub> düzeyi (pg/mL) belirlenen kişi sayısı ve ortanca değerleriyle birlikte cinsiyet, numune kabul saatleri ve yaş grupları arasında karşılaştırmalar ve ilgili p değerleri.....	54
<b>Tablo 30:</b> Serum vitamin B <sub>12</sub> (pg/ml) için indirekt yöntemle elde edilen referans aralıklar.....	55
<b>Tablo 31:</b> Serum folat düzeyi (ng/mL) belirlenen kişi sayısı ve ortanca değerleriyle birlikte cinsiyet, numune kabul saatleri ve yaş grupları arasında karşılaştırmalar ve ilgili p değerleri .....	56
<b>Tablo 32:</b> Serum folata (ng/mL) ait indirekt yöntemle elde edilen referans aralıklar.....	56
<b>Tablo 33:</b> Serum prolaktin düzeyi (ng/mL) belirlenen kişi sayısı ve ortanca değerleriyle birlikte cinsiyet, numune kabul saatleri ve yaş grupları arasında karşılaştırmalar ve ilgili p değerleri.....	57
<b>Tablo 34:</b> Serum prolaktinine (ng/mL) ait indirekt yöntemle elde edilen referans aralıklar.....	58
<b>Tablo 35:</b> Serum total kortizol düzeyi (µg/dL) belirlenen kişi sayısı ve ortanca değerleriyle birlikte cinsiyet, numune kabul saatleri ve yaş grupları arasında karşılaştırmalar ve ilgili p değerleri .....	59
<b>Tablo 36:</b> Serum total kortizolu (µg/dL) için indirekt yöntemle elde edilen referans aralıklar.....	61
<b>Tablo 37:</b> RCV konseptine göre indirekt yöntem referans aralıklarının diğer yöntemlerin referans aralıklarıyla kıyasların özeti.....	94



**KISALTMALAR DİZİNİ**

<b>ABD</b>	: Amerika Birleşik Devletleri
<b>CLSI</b>	: The Clinical and Laboratory Standards Institute
<b>NIH</b>	: The National Institutes of Health
<b>CV</b>	: Coefficient of Variation
<b>CVw</b>	: Coefficient of Variation Within individual
<b>CVg</b>	: Coefficient of Variation Between Individual
<b>ACTH</b>	: Adrenokortikotropik Hormon
<b>TSH</b>	: Tiroid Stimüle Edici Hormon
<b>RCV</b>	: Reference Change Value
<b>IFCC</b>	: International Federation of Clinical Chemistry
<b>CLIA' 88</b>	: Clinical Laboratory Improvements and Amendments 1988
<b>SD</b>	: Standart Deviasyon
<b>CAP</b>	: College of American Pathologists
<b>Q-Probes</b>	: Quality-Probes
<b>BOS</b>	: Beyin Omurilik Sıvısı
<b>G. A.</b>	: Güven Aralığı
<b>EIA</b>	: Enzyme Immunoassay
<b>CEIA</b>	: Chemiluminescent Enzyme Imunoassay
<b>ISE</b>	: Ion-Selective Electrode
<b>SDBK</b>	: Serum Demir Bağlama Kapasitesi

## 1. GİRİŞ

Klinik laboratuvarların hasta hizmetlerindeki rolü yeni yöntemler ve teknoloji sayesinde giderek artmaktadır. Amerika Birleşik Devletleri (ABD)'de yapılan bir çalışmada alınan bütün tıbbi kararların % 70'i laboratuvar sonuçları üzerinden tesbit edildiği gösterilmiştir (1). Klinik laboratuvarın hasta yönetimi üzerindeki ciddi etkileriyle beraber sağladığı verilerin güvenli olması gerektiği aşıkardır.

Referans aralık klinik laboratuvar analizlerinin postanalitik evredeki en önemli bileşenidir. Referans aralığın uygun bir şekilde analizlerle beraber rapor edilmesi klinisyen için vazgeçilmezdir. Referans aralığın doğru ve güvenilir şekilde elde edilmesi ve hasta analiz raporlarına doğru şekilde aksettirilmesi testlerin sonucu kadar önemlidir. Sağlıkla alakalı referans aralıklar laboratuvardan laboratuvara ve analizörden analizöre değişmektedir. Örneğin, 525 laboratuvarın katıldığı bir çalışmada kalsiyum için alt referans aralık limitinin 8,3 mg/dl ile 8,8 mg/dl arasında değiştiği gözlenmiştir (2).

Referans aralığın tesbitini etkileyen birçok sebep mevcuttur. Uygun sayıda sağlıklı denek, yaş, cinsiyet temelinde alt gruplandırma, istatistik, preanalitik değişkenler, preanalitik ve analitik evre standardizasyonu, en önemlileridir. Preanalitik değişkenler arasında sıklıkla ihmal edilen numune alma zamanıdır (3). Numune alma zamanı, döngüsel varyasyonu olan analitlerin referans aralıklarının tesbitinde çok önemlidir. Biz, numune alma zamanı temelinde referans aralıklar tesbit etmeyi ve ayrıca biyolojik varyasyonu olan birkısım analitlerin de referans aralıklarının numune alınma zamanına göre değerlendirmeyi amaçladık.

Klinik laboratuvarların referans aralık tesbitini nasıl yapması gerektiğine dair bir çok kaynak vardır. Fakat Klinik ve Laboratuvar Standartları Enstitüsü (CLSI; The Clinical and Laboratory Standarts Institute) tavsiyeleri bu konudaki en iyi kaynaklardan biridir (4). Bu tavsiyelere göre referans aralık doğrudan yöntemle belli sayıdaki sağlıklı insanlardan alınan kan numunelerinin ölçümü ve uygun istatistiksel yöntem ile belirlenmesi sonucunda ortaya çıkar (4,5).

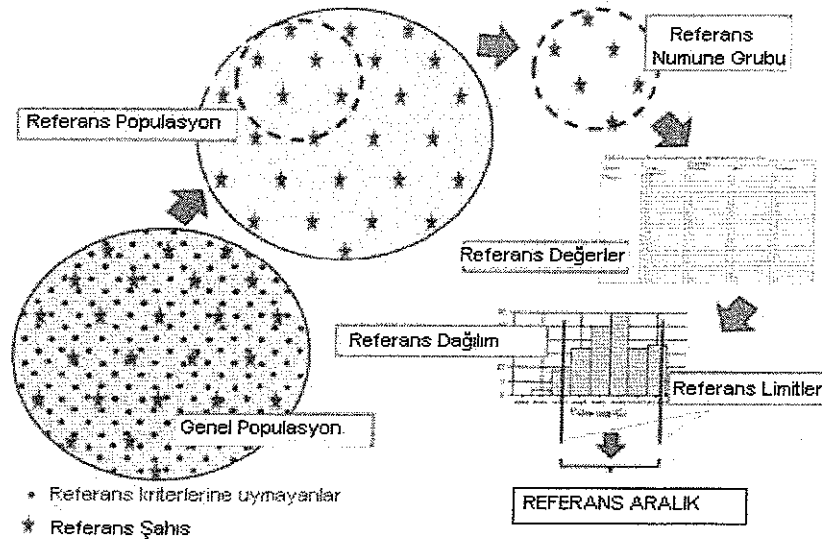
Referans aralık tesbiti her bir klinik laboratuvarın kendi kaynak ve donanımıyla oluşturulabilir.. Doğrudan yöntem zahmetli, masraflı, zaman harcayıcı ve pratik olmamasında dolayı ve hem ölçülen analitlerin çokluğu hem analitik sistemlerin değişmesi sebeplerinden laboratuvarların ucuz, pratik, basit yoldan referans aralığın elde edilebileceği dolaylı yöntemler de mevcuttur. Bu alanda yapılmış ve hala yapılmakta olan çok sayıda çalışma mevcuttur (6-14). Dolaylı yöntemler doğrudan yöntemlerin tamamlayıcısıdır.

Biz bu çalışmayla biyolojik varyasyon gösteren bazı parametrelerin bölgesel indirekt referans aralıklarını belirlemeyi amaçladık.

## 2. GENEL BİLGİLER

### 2.1. Referans Aralığının Tanımı

Hasta sağlığı yönetiminde hastanın değerlendirilmesinde karşılaştırmaya ihtiyaç duyulur. Sağlıklı insanların verileri ile karşılaştırılır. Klinik laboratuvar verileri için normal değerler referans aralıktır. Tıbbi laboratuvar bulgularının yorumlanması ancak sağlıklı insanlardan veya belli hastalığı olan insanlardan elde edilen referans değerleriyle mümkündür. Referans değerler olmadığı zaman hastanın analiz sonuçlarını değerlendirmek mümkün değildir (15). Terminolojik olarak “normal değer” veya “normal aralık” ifadelerinin kullanımı yeterli bulunmamış, bunun yerine 1980’lerde uygulamaya konulan “sağlıklı insanlardan elde edilen referans değerler”, “sağlıkla alakalı referans değerler”, “sağlığa ait referans aralık” veya “referans aralık” terimleri kullanılmaktadır (15,16). Referans aralık referans şahısların oluşturduğu referans popülasyonu içinde bir referans numune grubu belirlenerek uygun bir istatistiksel yöntem ile bu grubun referans değerleri dağılımı ve referans limitleri belirlenir, alt ve üst limitler olarak belirlenen değerler referans aralıktır (Şekil 1) (17).



**Şekil 1:** Referans popülasyonu, referans numune grubu, referans değerler, referans dağılımı, referans limitleri ve referans aralık kavramları.

Referans şahıs iyi belirlenmiş kriterler temelinde referans aralık çalışması için seçilen şahıstır. Referans populasyon referans şahısların meydana getirdiği gruptur. Referans numune grubu referans populasyonu temsili için seçilen yeterli sayıdaki referans şahıs olarak tanımlanır. Referans değer referans numune grubuna ait bir referans şahısta belli bir analitin ölçülmesi yoluyla elde edilen test sonucu veya değeridir. Elde edilen referans aralık genel populasyonun bir niteliği olarak kabul edilir ve bu genelleme hasta laboratuvar sonuçlarının beraberinde kıyas olarak kullanılır (15).

## 2.2. Referans Aralık Çeşitleri

İki tip referans aralık vardır. Bunlardan birinci yukarıda tarif edildiği şekliyle sağlıklı populasyondan elde edilen referans değerlerin uygun istatistiki yöntemle belirlendiği sağlıklı alakalı referans aralıktır. Bazı yazarların ikinci bir referans aralık şeklinde tanımladığı diğer referans aralık ise tıbbi karar limitleridir (18). Tıbbi karar limitleri klinisyenlerin hasta yönetiminde belli bir hastalık için kullandığı belli limitlerdir. Tıbbi karar limitleri klinik çalışmalar yoluyla belirlenir ve genel olarak literatürden alınır. Örneğin, diyabet tanısı için açlık serum glukozunun 126 mg/dl cutoff değeri bir tıbbi karar limitidir. Açlıkta kan glukoz düzeyinin iki defa 126 mg/dl üstünde olması diyabet tanısı koydurmaktadır. 126 mg/dl bir tıbbi karar limiti olmasına karşılık açlık kan glukozunun sağlıklı kişilerde referans aralığı 70-109 mg/dl'dir (19).

Sağlıklı kişilerde referans aralığı da kendi arasında iki kısma ayrılmaktadır. Birinci kısım şahsa ait referans aralığıdır. Buna göre belli bir şahsın sağlıklı iken belli bir analite ait daha önceki ölçümleri aynı şahsın kişisel referans aralığıdır. İkinci kısım referans aralık ise populasyon temelli referans aralık olup genel referans aralığıdır (20,21).

### 2.2.1. Kişisel Referans Aralıklar

Sağlıklı bir şahısdan farklı zamanlarda alınan numune analizlerinde birçok analite ait ölçüm sonuçları farklı olabilmektedir. Bu farklılığın sebepleri analitik bir hata olmadığı müddetce biyolojik varyasyon, preanalitik varyasyon ve analitik

varyasyondur. Bu üç varyasyon hemen bütün analitler için geçerlidir. Numune sonuçlarını etkileyebilen bu sebepler tabiatıyla referans aralıkları etkilemektedir. Bununla beraber bir analitin belli insanlardaki varyasyonu ile başka insanlardaki varyasyonu da farklı olabilmektedir (22,20).

Amerikan Ulusal Sağlık Enstitüleri (The National Institutes of Health; NIH) çalışmasına göre sadece bir şahısdan elde edilen referans değerlerin dağılımı popülasyona ait referans değerinin dağılımından istikrarlı olarak merkeze daha yakın olduğu bulunmuştur (22). Belli bir şahıs için kendi referans aralığına göre anormal denilebilecek bir test sonucu popülasyon referans aralığına göre normal anlamına gelebilecektir. Bu sorunun çözümü için Harris, belli bir analit için kişisel biyolojik varyasyonunu kişiler arası biyolojik varyasyonuna oranlamış ve R olarak kısaltılan bu oran 1,4'den büyükse popülasyon temelli referans aralığının uygun olacağını göstermiştir (23). R değeri 1,4'ten küçükse popülasyon temelli referans aralıklarının kullanılması uygun değildir.

İlave olarak Gaussian dağılım gösteren analitler için referans aralık tesbitindeki merkezi % 95'lik dışındaki alt % 2,5 ve üst % 2,5 referans değerler hesaba katılmayacağı için bu değerler referans aralığının dışında kalacaktır. Böylece referans aralık tanımına göre % 2,5 yanlış negatif ve % 2,5 yanlış pozitif şeklinde hastaları en başta sınıflandırılmış olacaktır (24). Her bir şahsa mahsus ve her bir analiti etkileyebilen her bir faktöre göre referans aralık tesbit etmek mümkün olmadığı için popülasyona ait referans aralıklarının kullanılması pratik tek yoldur (25).

### **2.3. Referans Aralığını Etkileyebilen Faktörler**

#### **2.3.1. Preanalitik Faktörler**

Referans aralığının tesbitini etkileyen çok sayıda preanalitik değişken mevcuttur. Bu değişkenlerin kesinlikle göz ardı edilmemesi ve kontrolü gerekir (26,27). Preanalitik aşamada bir hasta sonucunu etkileyebilen bütün değişkenler dolayısıyla referans aralık tesbitini de etkileyecektir. Preanalitik aşama standardizasyonu için iki yol mümkündür. Birincisi preanalitik faktörlerden kolay kontrol edilebilir olanların standardize edilmesidir. İkincisi ise bütün preanalitik

faktörlerin ideal şekilde standardize edilmesidir (20). Preanalitik evre değişkenleri aşağıda gösterilmektedir.

#### 1) Hastanın Hazırlanması

- Açlık veya tokluk durumu
- İlaç kullanımı
- Fiziksel aktivite
- Önceki diyetleri
- Stres
- Numune alınmadan önce istirahat

#### 2) Numunenin Alınması

- Günün zamanı
- Postür
- Numune tipi
- Numune alım yerin hazırlanması
- Ekipman ve teknik

#### 3) Numunenin İşlenmesi

- Transport
- Pıhtılaşma
- Serum veya plazmanın ayrılması
- Numunenin muhafazası

#### 4) Analize hazır hale getirilmesi

##### 2.3.1.1. Biyolojik Varyasyon

Referans aralık çalışması sürecinde ilk aşamalardan birisi çalışılacak analitin biyolojik varyasyon kaynakları hakkında kantitatif bilgiye sahip olmaktır. Bu bilgi literatürde yoksa pilot çalışmalar düzenlenmelidir (28,29). Biyolojik varyasyon iki alt kategoride incelenir. Birincisi kişisel biyolojik varyasyon, ikincisi ise toplumdaki

kişileri kapsayan kişilerarası biyolojik varyasyondur. Kişisel biyolojik varyasyon bir şahısdaki hemostatik denge civarındaki laboratuvar verisinin değişimine denilmektedir. Farklı insanların hemostatik denge düzeylerindeki farklılık ise kişilerarası biyolojik varyasyon olarak tarif edilmektedir (20).

Ortalama kişisel varyasyon analitlere göre değişmektedir. Kişisel varyasyon tesbit edilmesinde farklı şahıslar kullanıldığı için bulunan varyasyon değeri ortalama değer olmalıdır. Tablo 1, bazı analitlerin kişisel ve şahıslararası biyolojik varyasyon derecesini göstermektedir. Her bir analite dair çok sayıda biyolojik varyasyon çalışması yapılmıştır (30-32). Bu çalışmaların sonuçları birbirinden farklı olabilmektedir. Biyolojik varyasyon yüzde şeklinde ifade edildiği gibi % CV tarzında da olabilir. Tablodaki CVw kişisel CV (Coefficient of varition within individual) CVg kişilerarası CV (Coefficient of varition between individual)'ye tekabül eder (30).

**Tablo 1:** Bazı analitlerin biyolojik varyasyon değerleri (30)

Numune	Analit	Biyolojik Varyasyon %	
		CVw	CVg
Serum	Kalsiyum	1.9	2.8
İdrar	Kalsiyum, konsantrasyon, 24 saat	27.6	36.6
İdrar	Kalsiyum, iyonize	1.7	2.2
İdrar	Kalsiyum, atılım, 24 saat	26.2	27.0
Serum	Transferin (Karbonhidratı olmayan)	7.1	38.7
Serum	Karsinoembriyonik antijen (CEA)	12.7	55.6
Kan	CD <sub>4</sub> lenfosit sayısı	25.0	---
Serum	Seruloplazmin	5.8	11.1

Biyolojik varyasyon sıklıkla klinik kararları değiştirmektedir. Örneğin, LDL kolesterol için % 8,3 olan kişisel biyolojik varyasyon değeri çok önemlidir; hastaların yüksek riskli kardiyovasküler hastalık grubuna girmesine veya sağlıklı



olarak değerlendirilmesine olanak sağlar. Böyle bir durumda klinisyenler referans aralığa dayanarak karar vermeyi yeterli bulmazlar. Eğer referans aralıklara bakarak karar verselerdi tedavi alması gereken bazı hastalar tedavi alamazlardı, almaması gereken bazı hastalar ise tedavi görecektirdi (33). Bu, klinisyenlerin analiz sonuçlarını değerlendirmesinde önemlidir (20).

### **2.3.1.2 Döngüsel Varyasyon**

Döngüsel varyasyon, analit düzeylerinin günün, haftanın, ayın, senenin belli zamanlarında tahmin edilebilir şekilde gözlenen değişimlerine denilmektedir. Üç kısımda incelenir. Sırasıyla diurnal, ultradian ve infradian varyasyonlardır (17).

### **2.3.1.3 Diurnal Varyasyon**

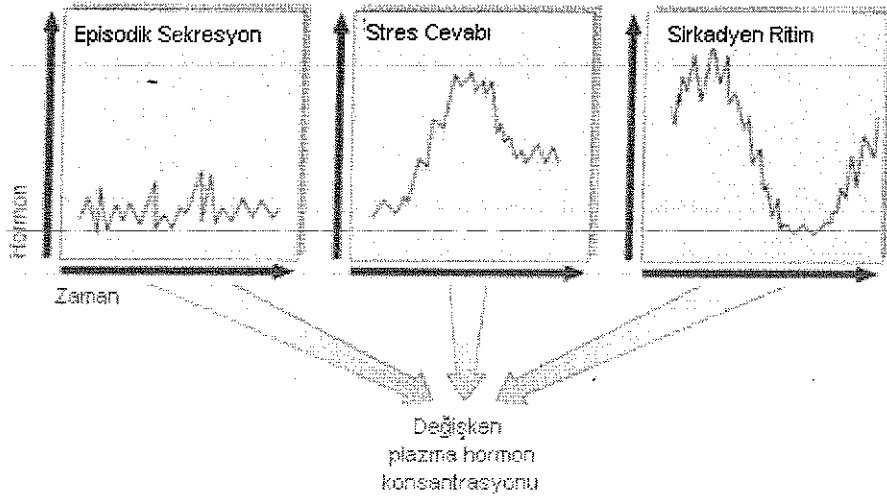
En çok tekrar eden döngüsel varyasyon çeşididir. Bir gün içerisindeki gözlenen değişimleri ifade eder. Postür, öğün alımı, egzersiz, uyku, gece-gündüz farklılığı, stres gibi faktörler sirkadyen ritmi oluştururlar. Vücut sıvılarının çoğu bileşenleri gün boyu bu ritmi takip ederler. Hipofiz bezi kaynaklı hormonların çoğu diurnal varyasyon gösterir. Örneğin, adrenokortikotropik hormon (ACTH), büyüme hormonu, tiroid stimule edici hormon (TSH) ve prolaktin. Bunlar tarafından uyarılan hormonlar arasında kortizol, renin-aldosteron, katekolaminler sayılabilir. Günün bir kısmında artan, geri kalan kısmında azalan kandaki düzey değişikliği uyku saatlerine göre düzenlenir. Diurnal ritmi olan diğer analitler ise idrarda sodyum, potasyum ve fosfor gibi elektrolitlerdir (34). Farklı zamanlarda alınan idrar numunelerin elektrolit düzeylerinde % 50 oranında farklılık olabileceği gösterilmiştir. Diğer analitler ise serum demiri ve kemik markırları olan osteokalsin ve kollajen telopeptidleridir (17).

Diurnal ritmi olan her bir analit için günün sadece belli zamanlarda numune alınması gerekir ve numune alma zamanlarına göre referans aralıklar hesaplanmalıdır (17,25).

### **2.3.1.4 Ultradian Varyasyon**

Ultradian varyasyon hipofiz hormonlarının diğer bir varyasyonudur. Episodik salınım olarak da bilinen ultradian varyasyonda ara ara değişen serum hormon

seviyeleri bazal seviyenin birkaç katı olabilmektedir. Gün boyunca gerçekleşen bu salınımın ne zaman olduğu bilinmediği için ultradyan varyasyonu olan analitlere dair tek bir numunenin analizi bu hormonların kan seviyeleri hakkında bilgi vermez (35). Şekil 2’de episodik sekresyon gösterilmektedir.



**Şekil 2:** Ultradian varyasyon ve diurnal varyasyonun plazma hormon düzeylerine olan etkisi (35).

### 2.3.1.5 İnfradian Varyasyon

Bir günden daha uzun süren bir periyotta gerçekleşen döngüsel varyasyon türüdür. Menstrüal döngüdeki yumurtalık hormonları bu tür bir varyasyona örnekler. Yumurtalık hormonlarının menstrüal döngüdeki zamanlara göre kan seviyeleri anlamlı olarak farklıdır. Kalsiyum, magnezyum, kolesterol, parathormon, renin, aldosteron ve antidiüretik hormon gibi analitlerin kan seviyelerinde aylık değişimler görülmesi de infradian varyasyona örnektir (36). Bu döngü zamanlarına göre referans aralıklarının belirlenmesi gerekir.

Bir açıdan dördüncü bir döngüsel varyasyon tipi ise Vitamin D gibi yazın daha yüksek seviyede olabilen yıl içi varyasyondur. İdrar okzalatının yazın diğer mevsimlere kıyasla daha yüksek olması yine bu varyasyona işarettir (17).

### 2.3.2. Analitik Faktörler

Referans değerler ile hasta değerleri arasında kıyas olabilmesi için aynı analitik metodun kullanılması gerekir. Analitik faktörler preanalitik aşamada yapılması gerektiği gibi kontrol edilmelidir. Öncelikle numune analiz metodunun analitik performansı ayrıntılı olarak kayıt edilmelidir. Analitik metodun doğruluğu, presizyonu, analitik sensitivite ve spesifitesi, interferans kaynakları, ölçüm aralığı bilinmelidir. Bilhassa metodun doğruluğu ve tekrarlanabilirliği kabul edilebilir sınırlar içinde olmalıdır. Bu parameterlerin geçerli olduğu kabul edildikten sonra cihaz, kit, kalibratör ve kontrol gibi değişkenlerin de uygun olup olmadığına bakılmalıdır. Analitik metodun internal ve eksternal kalite değerlendirmeleri rutin olarak denetlenmelidir. Bununla beraber kit ve kalibratörlere ait lot farklılıkları olabileceği gibi cihaz teknikerleri arası çalışma farklılıklarının mümkün olduğu hatırlanmalıdır. Birden fazla kit veya kalibratör lotu kullanılmalı ve birden fazla cihaz teknikeri analizleri yapmalıdır. Referans aralıkların belirlendiği dönem boyunca rutin internal kontroller uygulanmalıdır (26,37).

### 2.3.3. Referans Değişim Değeri

Bir hastadaki belli bir analitin arka arkaya ölçümleri arasındaki farkın klinik olarak anlamlı denilebileceği seviyedir. İlk olarak Harris ve Yasaka'nın geliştirdiği referans değişim değeri (RCV; referance change values) aynı zamanda da kritik farklılık olarak adlandırılmaktadır (38). Klinisyenler bir hastanın arka arkaya istediği test sonuçları arasındaki anlamlı farklılık olup olmadığını tecrübelerine göre belirlerler. Fraser ve arkadaşları birçok analitin kritik farklılıklarını hesapladığında bu farklılıkların klinisyenlerin tecrübe ile bildikleri farklılıklardan daha küçük olduğunu bulmuşlardır (39).

Referans değişim değerinin hesabında hem analitik hem kişisel biyolojik varyasyon dikkate alınmaktadır. Aşağıdaki formül ile kritik farklılık hesaplanabilmektedir. Yüzde şeklinde ifade edilir. Z-skoru % 95 ihtimal düzeyindeki anlamlı RCV için kullanıldığında 1,96 olmaktadır (37).

$$RCV = 2^{1/2} * Z * (CV_a^2 + CV_i^2)^{1/2}$$

Referans değişim değeri analitik varyasyondan etkilendiği için her bir laboratuvar kendi referans değişim değerini her bir analitin internal kalite kontrol çalışmasında gözlenen varyasyon katsayısına göre bu hesabı yapmalıdır. İkinci önemli nokta ise kişisel biyolojik varyasyon değerleri farklı çalışmalarda farklı olabilmektedir. Ayrıca Ricos ve arkadaşlarının ortalama kişisel biyolojik varyasyon değerlerini farklı yayınları inceleyerek rapor etmişlerdir. (40). Tablo 2’de bu çalışmadan alınan bazı analitlerin referans değişim değerleri gösterilmektedir. Diğer bir sorun ise, sağlıklı insan verisi kullanılarak elde edilen kritik farklılık derecesinin hospitalize hastalarda daha yüksek olmasıdır. Buna göre referans değişim değerinin hospitalize hastalarda kullanımı sınırlıdır (20).

**Tablo 2:** Bazı analitlerin referans değişim değerleri (40).

Numune	Analit	Kişisel biyolojik varyasyon (%)	Analitik varyasyon (%)	RCV % 95
Serum	Sodyum	0,7	0,4	2,2
İdrar ( 24 saat )	Sodyum	24	12	74,4
Serum	Testesteron	9,3	4,7	28,8
İdrar	Testesteron	25	12,5	77,5
Serum	TSH	19,7	9,9	61,1
Serum	T4	6	3	18,6
İdrar ( 24 saat )	Total katekolamin	24	12	74,4
Serum	Transferrin	3	1,5	9,3
Serum	Trigliserit	20,9	10,5	64,8
Serum	Tnf $\alpha$	43	21,5	133,3
Serum	Ürik asit	8,6	4,3	26,7
İdrar ( 24 saat )	Ürik asit	24,7	12,4	76,5

Referans değişim değerinin klinik kullanımı yanında, klinik laboratuvarlar için hem analitik hem postanalitik kullanımı da mevcuttur. Analitik kontrolün ikinci şekli olan hasta dadasının yorumlanmasında kullanılmaktadır. Analitik bir problem olduğunda hasta test sonucu etkileneceğinden, aynı veriyi klinisyen hastada klinik bir farklılık olup olmayacağını yönünde kullanırken klinik laboratuvar uzmanı ise analitik bir sorun olup olmadığını düşünmek için kullanacaktır. Referans değişim değeri postanalitik evrede ise iki referans aralık arasında anlamlı fark olup

olmadığını göstermek için kullanılmıştır (7). İki farklı yolla elde edilen referans aralıklar arasında farklılık olup olmadığını isbat eder.

#### **2.4. Referans Aralığın Tesbiti**

Referans aralık tesbiti referans şahısların seçim şekline göre farklı iki yol ile yapılır. Birincisi direkt örnekleme yöntemi, ikincisi indirek örnekleme yöntemidir (17,20). Bu iki yöntemin uygulanmadığı durumda referans aralık transferi ve geçerli kılınma yolu olan üçüncü bir yol da mevcuttur.

##### **2.4.1. Direkt Yöntem**

Direkt örnekleme yöntemi referans aralıkların tesbitine yönelik Uluslararası Klinik Kimya Federasyonu (Internation Federation of Clinical Chemistry; IFCC) tarafından tavsiye edilen tek yöntemdir (5). Bu yöntemin en önemli dezavantajları arasında referans şahısların elde edilmesinde karşılaşılan problemler ve maliyet sorunları bulunmaktadır (41).

Direkt örneklemede referans şahıslar belirli kriterler kullanılarak referans popülasyondan seçilmektedir. Direkt örnekleme sağlıklı deneklerin seçimine bağlı olarak a priori veya a posteriori şeklinde olabileceği gibi random ve/ veya random olmayan şeklinde de olması mümkündür. A priori yaklaşımda referans aralık çalışmasını kabul kriterleri önce belirlenir ve sonra bu kriterlere göre denekler seçilir. A posteriori yaklaşımda ise denekler hakkında hem analiz sonuçları hem de bilgi mevcut olduğu durumlarda kabul kriterlerini karşılayanların çalışmaya dahil edildiği yaklaşımdır. Bu iki yaklaşımdan farklı olarak her bir deneğin kendi aralarında eşit veya eşit olmayan ihtimalle seçilmesine sırasıyla random ve random olmayan örnekleme denilmektedir. Referans aralık çalışmalarında çoğunlukla nonrandom şekilde referans şahıslar seçilmektedir (42). Buna göre bir popülasyondaki insanların hepsi çalışma için eşit seçilme şansına sahip olmayacaktır. Bu tür çalışmalarda referans şahıs olarak kan veren insanlar, bir fabrikada çalışanlar, hastane personeli, tıp öğrencisi, hastane verileri kullanılırsa ortaya çıkan referans aralıklar hatalı olabilecektir (20).

### 2.4.1.1. Direkt Yöntem Protokolu

Referans değerlerin sağlıklı deneklerden elde edilmesi ve sonrasında referans aralığının tesbiti IFCC'ye göre yapılması lazımdır. İyi tanımlanmış bir protokol izlenmesi gerekir (17). Bu protokol Tablo 3'te gösterilmektedir.

**Tablo 3:** Referans aralıklarının direkt yöntemle tesbit edilmesine dair protokol (17)

1	Literatüre başvurulur ve analite ait biyolojik varyasyon ve analitik interferanslar belirlenir.
2	Seçim kriterleri veya dışlama kriterleri ve alt gruplandırma kriterleri belirlenir ve muhtemel referans şahısların seçiminde bu kriterlere göre anket hazırlanır.
3	Uygun sağlık değerlendirmeleri ve ankete göre muhtemel referans şahıslar kategorize edilir
4	Sağlıklı olmadığı düşünülen ve dışlama kriterlerine uygun olmayan şahıslar referans numune grubuna alınmazlar
5	Uygun olan referans şahıslar seçilir.
6	Analite ait numune toplanmasında özel bir şart olup olmadığına bakılır ve rutin hasta numuneleri gibi çalışılacak şekilde referans şahıslardan numune alımına hazırlanmaları istenilir
7	Uygun şekilde numuneler alınır ve rutin hasta çalışmalarına benzer olacak şekilde numuneler işlenir
8	İlgili analitik metodla numuneler analiz edilir ve referans değerler belirlenir.
9	Referans değer verisi gözlenir ve histogram hazırlanır.
10	Dağılım bimodal veya polimodal dağılım olmamalıdır. Veri hataları ve uç değerler ayıklanır,
11	Belli bir istatistikî yöntemle referans değerler analiz edilir ve referans limit ve referans aralık belirlenir. Bu belirlemede alt gruplandırma gerekiyorsa her bir alt grup için farklı bir referans limit ve aralığının tesbiti gereklidir.
12	Bütün aşama ve prosedürler kaydedilir.

### 2.4.1.2 Referans Şahısların Seçimi

Referans şahısların seçiminde ilk aşama referans numune grubundan sağlıklı insanların sağlıklı olmayanlardan ayırılmasıdır. Sağlık kavramının tanımı muğlak olduğundan referans aralık çalışmalarının etkilemektedir (43). Sıklıkla referans şahsın referans aralığı tesbit edilecek analitin etkilendiği hastalıkların olmadığı zamandaki sağlık durumu dikkate alınır. Bazı durumlarda hafif hastalığı veya analitin etkilenmediği ilgisiz bir hastalığı olan referans şahıslarda çalışmaya alınmaktadır.

Referans şahısların seçimi önemlidir ve sistematik olunmalıdır (5). Referans şahıslar belirlenmeden önce sağlıklılık için kabul veya dışlama kriterleri oluşturulmalıdır (15,44). Bu kriterler hangi şahısların referans grupta olacağını gösterir. Kabul kriterleri veya dışlama kriterleri açık olarak belirtilmelidir. Kabul kriterleri veya dışlama kriterleri haricinde deneklerin tıbbi muayane ve laboratuvar testlerinin yapılması şart değildir. Fakat bu değerlendirmelerin yapılması referans aralığın güvenilirliğini daha da arttıracaktır. Referans şahıs seçiminde kullanılan kabul veya dışlama kriterlerinden bazıları şunlardır; ilaç kullanımı, hamilelik, açlık veya tokluk, obezite, alkol kullanımı, laktasyon, sigara, genetik faktörler, anormal kan basıncı, kan verme ve yakın zamanlı transfüzyon, yakın zamanda geçirilmiş hastalık, ameliyat, hastane kayıtlarıdır (20,44).

Referans şahısların seçiminde diğer önemli bir husus referans aralıklarının kullanılacağı popülasyonun dikkate alınmasıdır. Referans aralıklarının kullanılacağı hastaneye veya ilgili kuruma gelen hastalara benzeyen referans şahısların olması gerekir (45). Pediyatrik ve geriyatrik hasta olmayan referans şahısların bulmak zor olabileceğinden bu yaşlara ait referans aralıklar için yeterli sayıya ulaşamayabilir (43,46). Bu yüzden bu gruplar için indirek örnekleme veya referans aralık transferi düşünülmelidir. Yaşa bağlı referans aralık her bir analit için gerekli olmayabilir. Bu durumlarda genç sağlıklı yetişkinlerin eldesi yeterli olacaktır. Hazırlanacak uygun bir anket ile beraber deneklerin rızası alınmalıdır (17,47).

### 2.4.1.3. İstatistik

Referans aralık çoğunlukla alt ve üst limit olmak üzere iki limitten oluşur. İnterpersentil olarak da bilinmektedir (48). Bu limitler referans değer dağılımının genellikle belli bir yüzdesi olan merkezi % 95'ine tekabül eder. Çoğu analitlerde bu oran % 2,5 persentil ile % 97,5 persentil arasındadır. Bazı analitlerde ise referans aralık tek referans limitinden meydana gelir. Örneğin, troponin I ve T, miyoglobulin bu tür referans aralığı olan analitlerdendir (17).

Referans aralık limitlerinin belirlenmesinde 3 farklı istatistiki yöntem mevcuttur. Parametrik, parametrik olmayan ve robust yöntemlerle direk referans aralık tesbiti yapılmaktadır (48).

Parametrik yöntemde gözlenen değerlerin veya bu değerlerin matematik transformasyonunun Gaussian veya normal ihtimal eğrisine uyduğu farzedilir. Parametrik yöntemde kritik aşama referans dağılımın gaussian dağılıma uygun olup olmadığını test etmektir. Gaussian dağılıma uygun olup olmadığını gösteren istatistiki testler bulunmaktadır. Bu testler üç kısımda incelenmektedir. Grafiki prosedür, katsayı temelli testler, şekil farklılığı temelindeki testler olmak üzere üç kısımdır. IFCC tarafından tavsiye edilen test Kolmogorov-Smirnov, Cramer-von Mises ve Anderson Darling testleridir. Bu testler teorik dağılım ile gözlenen dağılım arasında şekil farklılıklarını açıklayan testlerdir (49).

Yukarıdaki dağılımı gösteren testler dağılımın Gaussian olmadığını tesbit ederlerse ilk aşamada yapılacak şey referans verisini dönüştürmektir (transformasyon). Birçok analitin referans değerlerinin dağılımı Gaussian olmadığı için transforme edilerek dağılım normalize edilmektedir. Dönüşüm logaritmik, üssel olabilmektedir. Dönüştürülme sonrasında Gaussian dağılım gösterdiği anlaşıldıktan sonra ters transformasyon ile referans verinin referans aralığı hesaplanır (20,49).

CLSI referans aralık tesbitinin parametrik olmayan yöntemle yapılmasını tavsiye etmektedir (47). Bu tavsiye ile birlikte en az 120 referans değer şartı vardır. Parametrik olmayan yöntemde gözlenen referans veriyle ilgili olarak belli bir matematiksel ihtimal dağılımı ön şartı yoktur. Parametrik olmayan metod için gerekli



referans şahıs sayısı Lott ve arkadaşlarına göre % 99 güven limiti için 198'dir (50). Referans değerlerin dağılımında sola veya sağa çarpıklık varsa daha fazla referans değere ihtiyaç vardır. Ayrıca referans dağılım sonrası yaş ve/veya cinsiyete göre alt gruplandırma ve referans aralık gerekiyorsa her bir alt grup için de bu sayıya ulaşılması şarttır. Gözlem sayısı ne kadar artarsa istatistiki tahminin daha doğru olacağı muhakkaktır (27,48).

Referans aralık tesbiti için diğer istatistiki yöntem robust tekniğidir. Kelime olarak "sağlam", "güçlü" anlamına gelen bu teknik ile referans şahıs sayısı 20 olduğunda bile referans aralık tesbiti mümkündür. Ne Gaussian dağılım şartı ne de 120 adet denek şartı yoktur. Bu teknik ilk defa Horn ve arkadaşlarıca bulunmuştur (51). Populasyon ortalama veya ortanca değer lokasyonu için robust tahminleriyle referans aralık hesaplanır (51,52).

Bu üç yöntem ile edilen referans aralıkların güven aralıklarının da hesaplanması gerekir. Güven aralığı farklı bir gözlemci farklı bir referans verisi elde ettiği zaman ortaya çıkabilecek farklı referans aralıkları içeren bir aralıktır. Parametrik yöntemlerde kullanılan formül aşağıda gösterilmektedir (20). Referans değerlerin standart sapması  $Sy$  referans değerlerin sayısı  $n$  ile gösterilmektedir (44,48).

$$Persentil \pm 2,81. Sy / \sqrt{n}$$

Referans aralıkların alt gruplandırılması, dağılımın gözlenmesi, uç değerlerin tesbiti ve değerlendirilmesi, referans aralığın tespitin en önemli aşamalarıdır. Bunların nasıl bir sırayla yapılacağına dair bir standart yoktur. Referans verisi ve kullanılan istatistiki metoda göre bu sıra değişmektedir (17).

#### 2.4.1.3.1 Uç Değerler

Direkt referans aralık tesbitinde referans değerler elde edildikten sonra ve uygun istatistiki metodu kullanmadan önce referans verilerdeki uç değerlerin belirlenmesi ve değerlendirilmesi ve gerekirse ayrıştırılması gerekir. Uç değer prenatalitik veya analitik aşamadaki bir hata sonucu oluşabilen yanlış veya uygunsuz

gözlem değerleridir (53). Böyle değerler silinmeden önce değerlendirilmelidir. Muhtemel uç değerlerin tesbitinde verinin histogramının inspeksiyonu güvenli bir metoddur. Görsel inspeksiyon dağılımın çarpık olması durumunda yanlış pozitif uç değerler tesbit edebilmektedir. Uç değerleri tesbit eden çok sayıda istatistiki test mevcuttur (27). Fakat her bir durumda uç değerleri gösteren tek bir test yoktur. Bu testlere iki önemli eleştiri getirilmektedir. Birincisi bu testlerin çoğunun testi kullanmadan önce doğru dağılımın bilindiğini kabul etmektedir. İkinci eleştiri ise birçok testin referans verinin sadece bir tane uç değer içerdiğini kabul etmesidir (20).

Uç değerlerin varlığını gösteren yukarıda açıklanan test dışında birçok test mevcuttur. Bunlardan biri Dixon testidir (54). Bu testte  $D/R$  oranı uç değer tanımı için kullanılmaktadır.  $D$  uç değer olduğu düşünülen en büyük veya en küçük gözlem ile bu değere en yakın gözlem arasındaki farka işaret ederken  $R$  ise bütün gözlem değerlerinin aralığı anlamına gelmektedir. Reed, Henry ve Mason  $D/R$  oranı için  $1/3$ 'lük bir cutoff değerini tavsiye etmektedir. Buna göre  $D$  değeri  $R$  değerininin  $1/3$ 'ünden daha büyükse uç değer olduğu düşünülen bu gözlem silinir (55).

İkinci bir yöntem olan interkuartil aralık sık olarak kullanılan bir uç değer analiz testidir. Bu teste göre  $Q1$  ve  $Q3$  arasındaki aralık hesaplanır. Bu aralığa interkuartil aralık (IQR) denir.  $Q1$ 'den  $1,5 * IQR$  çıkarıldığında elde edilen limit verinin alt kısmı için uç değer sınırır. Bu değer altında kalanlar uç değer olarak değerlendirilirler.  $Q3$ 'e  $1,5 * IQR$  eklendiğinde elde edilen değer verinin üst kısmı için uç değer sınırır. Bu değer üstünde kalanlar yine uç değer olarak değerlendirilirler (56).

Diğer bir uç değer testi ise daha basit olan Chauvenet kriterleridir. Buna göre bir değer olma ihtimali  $1/2N$ 'den daha küçükse o değer bir uç değerdir.  $N$  veri havuzundaki ölçümlerin sayısına tekabül eder (7).

Uç değer için çok sayıda istatistiki test geliştirilmesine rağmen referans veriden bu değerleri ayırmak hala büyük bir sorun olmaya devam etmektedir (57).

#### 2.4.1.3.2. Alt Gruplandırma

Alt gruplandırma referans değerlerin homojen şekilde dağılmadığı durumlarda yaş, cinsiyet gibi alt gruplandırıcı parametrelere göre dağılımın yeniden belirlenmesidir. Çakışan populasyonların ne zaman olduğunu ve ne zaman alt gruplandırmanın gerekeceğini bilmek alt gruplandırmanın en zor olan kısmıdır (58).

Alt gruplandırma faktörleri arasında yaş, cinsiyet, numune alma zamanı, sirkadian varyasyon, ırk, hamilelik, mens aşaması, egzersiz, açlık veya tokluk, coğrafi yer, kan grubu, sigara, hamilelik, numune alındığı zamanki postür gibi faktörler mevcuttur. Genel olarak alt grup populasyonların referans aralıkları arasındaki anlamlı bir fark, alt gruplandırma için yeterli bir sebeptir. Fakat klinik olarak anlamlı olmadığı sürece istatistiki bazı testlerle ölçülen anlamlı farklılığa dikkat edilmemektedir (17).

Alt gruplandırmayı değerlendiren testlerden birisi Haris ve Boyd tarafından uygulanan Z testidir (47,59). Bu iki yazara göre eğer istatistiki testler ayrı referans aralık olmasını gerektirirse muhakkak alt gruplandırmanın şart olduğunu öne sürmüşlerdir. İki alt grubun referans değerleri ortalamaları arasındaki fark Z test ile belirlenir. Z testi standart normal deviasyon testi olarak da bilinmektedir. Belirlenen z değeri kritik z değerinden daha büyükse ayrı bir referans aralığa ihtiyaç vardır (59). Bu iki yazarın tavsiye ettiği diğer test ise alt gruplardan birinin SD'sı diğerinin SD'sından 1,5 kat yüksek olması z değerine bakılmaksızın ayrı bir referans aralık tesbitini gerektirmektedir (59).

Sıklıkla kullanılan fakat yanlış sonuçlar verebilen istatistiki anlamlılık testleri mevcuttur. Bu yöntemler gruplar arası farklılık anlamlıysa alt gruplandırma gerekli olacağını gösterir (27,60).

Alt grup değerlendirmesi için diğer test ise klinik anlamlılık temelindeki referans değişim değeridir (RCV) (5). RCV bir hastadaki belli bir analitin arka arkaya ölçümleri arasındaki farkın klinik olarak anlamlı denilebileceği seviyedir. Kritik farklılık olarak da bilinmektedir. Klinik farklılığın bir göstergesi olan RCV iki farklı yolla elde edilen referans aralığın kıyaslamasında kullanılmıştır (7). Bu alt

gruplandırmada da kullanılabilir. Buna göre iki referans aralık arasındaki farklılık RCV değerinden daha düşükse alt gruplandırmaya gerek kalmayacaktır.

Üç ya da daha fazla alt grup kıyaslanacak ise kullanılacak test varyans analizidir. Varyans analizinin ön şartı bütün alt grupların standart sapmalarının eşit olmasıdır (17).

## **2.4.2. İndirekt Yöntem**

### **2.4.2.1. Kullanıldığı Durumlar**

Direkt örnekleme yönteminde referans şahısların seçimi zor ve zaman kaybettirici ve pahalı olması ve devamlı şekilde ölçüm metodlarının gelişimi ve değişimi beraber düşünüldüğünde birçok laboratuvarın kit prospektüsü veya literatüre bakıp referans aralığı transfer etmesi doğaldır. Özellikle pediatrik ve geriyatrik hastalara ait referans aralıkları ve beyin omurilik sıvısı, aspirasyonlar gibi bazı numune tipleri, 24 saatlik idrar, provakasyon testlerine yönelik referans aralıkların tesbiti çok zordur (41).

Bilinmelidir ki textbook veya firma referans aralık değerleri teşhis amaçlı kullanılmamalıdır. Buralarda yer alan bilgiler referans aralığının tesbitindeki metrolojik kaliteyi (sistemik hata ve impresizyonu) içermezler. Gerçekte bir textbookdaki referans aralığının gerçekliği eksternal kalite şemalarında gözlenen CV ile ters orantılıdır (61).

İndirekt örnekleme için kaynak laboratuvar bilgi sisteminde depolanan hasta sonuçlarıdır. Bu verilerdeki çoğu hasta sonucunun “normal” kabul edilmesi varsayımı ile referans aralık tesbit edilir (39,46). Gerçekte toplumu oluşturan kişilerin yaklaşık yarısında (prevalansı % 50’ye yakın) hiçbir hastalık yoktur. Bu yüzden göreceli olarak sağlıklı insanlardan referans aralık bu şekilde elde edilebilmektedir. Nihayetinde elde edilen referans aralıkları en iyi ihtimalle gerçeğe yakın tahminler olacaktır. Zaman ve kaynak israfının olmadığı bu yöntemle anlamlı referans aralıkları tesbit edilmektedir (6-14).

### 2.4.2.2. İndirekt Yöntem Protokolü

Laboratuvar verisini kaynak olarak kullanan indirekt yöntemler için belli prosedürel aşamalar tanımlanmıştır (62,63). Tablo 4'te gösterilen protokol indirekt yöntemin bir özetidir. Detay açısından bu protokol farklı çalışmalarda farklı şekilde uygulanmaktadır. Kısacası, referans verisinin eldesi ve istatistik kullanılmasından ibarettir.

**Tablo 4:** Referans aralıklarının indirekt yöntemle tesbit edilmesine dair protokol (62).

1	Laboratuvar bilgi sisteminden uygun bir istatistik programına referans verisi transferi yapılır.
2	Aynı hastanın tekrar eden test sonuçları silinir ve tek kayıt esas alınır. Uç değerler ayıklanır.
3	Yaş, cinsiyet ve numune alma zamanına göre alt gruplandırma yapılır.
4	Alt grup verilerinin grafiki dağılımlarına bakılır.
5	Grafik dağılımlarına göre uygun istatistiki yöntemler seçilir.
6	Alt gruplandırma gerekiyorsa ilgili kritere göre alt gruplandırma yapılır
7	Tahmin edilen dağılıma bakılır ve referans limitler 2,5 ve 97,5 persentil değerleri şeklinde belirlenir.

### 2.4.2.3. Referans Verisinin Seçimi

İndirek referans aralık tesbitinin en önemli aşamasıdır. Çoğunlukla bu aşama referans aralığın tesbitinde belirleyicidir. Genellikle 6 ay veya 1 sene gibi belli bir sürede analite göre değişen belli kliniklerin istemleri dışlanarak referans verisi elde edilir. Bazı çalışmalar birden fazla farklı referans verisi sunmaktadır (7). Bazı çalışmalarda aynı anda birçok bölgesel laboratuvar iştirak etmektedir (7,64). Tablo 5'te indirek referans yönteminde referans verinin seçilmesine yön veren bazı faktörler gösterilmektedir.

**Tablo 5:** İndirek yöntemde referans verisinin seçiminde etkili olan bazı faktörler (64)

1.	Referans verisinin süresi ve sayısı
2.	Referans verisinin elde edildiği klinik veya hasta grubu
3.	Referans verisinin alındığı laboratuvarlar veya hastaneler
4.	Referans verisi alınacak analitler
5.	Referans verinin alındığı hasta grubu (Örnek: Pediatrik hasta grubu)
6.	Hastaların numunelerinin alındığı tarih veya zaman
7.	Referans verisi elde edilen hasta sayısı

Bu faktörlere ilave olarak preanalitik aşamada referans aralığı etkileyebilen her bir faktör de referans verisinin seçiminde dikkate alınabilir. Fakat her bir preanalitik faktöre mahsus bir referans aralık tesbiti hem klinisyenler hem klinik laboratuvarcılar için kafa karıştırıcı olacağından genel olarak yaş, cinsiyet, numune alma zamanına göre referans aralıklar elde edilmektedir. Referans verisinin mahiyeti planlandıktan sonra bu verinin laboratuvar bilgi sisteminde işlenebilir ve transfer edilebilir olması gerekir. Çalışılmış hasta sonuçlarını yaş, cinsiyet, muayene olunan poliklinik, numune alma zamanı gibi bazı seçim kriterlerine göre sıralayabilmelidir. Böyle bir laboratuvar bilgi sistemi yoksa bu çalışmanın yapılması mümkün değildir .

#### 2.4.2.4. İstatistik

İndirek örnekleme yönteminde ham veri elde edildikten sonra ikinci büyük işlem bu ham verinin referans aralık tesbiti yapılacak şekilde düzenlenmesi ve nihayetinde referans aralıkların uygun yöntemle tesbit edilmesidir. Burada istatistiğe geçmeden dikkat edilecek en önemli nokta ham verinin örnekleme kriterlerine göre belirlenmiş olmasıdır (64).

Ham verinin içeriğinde yanlış girilmiş, uç değerler, test sonucu olmayan hasta sonuçları bulunabileceğinden ilk aşamada böyle kayıtlar çalışmadan çıkarılır (53). Bu aşama indirek örnekleme yönteminin en hassas noktasıdır. Meydana gelecek referans aralıkları belirleyen aşamadır. Uç değerlerle ilgili daha önce direkt

örnekleme yönteminde bahsedildiğinden burada tekrar edilmeyecektir. Söz konusu uç değer analizleri indirekt yöntemde de geçerlidir.

#### **2.4.2.4.1. İndirekt Örneklemede Kullanılan İstatistiki Yöntemler**

İndirekt örneklemede kullanılan istatistiki yöntemler direk yöntem için kullanılabilir yöntemlerin sayısından daha fazladır. Direkt örneklemede kullanılan parametrik, non-parametrik ve robust yöntemler indirekt örneklemede de geçerli olduğundan bu yöntemlerden tekrar bahsedilmeyecektir. Bunların haricinde literatürde kullanılan yöntemler Bhattacharya prosedürü, modifiye Bhattacharya prosedürü, Martin ve arkadaşlarının prosedürü, Kairisto ve arkadaşlarının prosedürü, Kümülatif Gaussian dağılım yöntemi, Concordet ve arkadaşlarının uyarladığı prosedür, Kernel dansite fonksiyonu, Hoffmann metodudur. Bu yöntemlerin herbirinin kullanıldığı yayınlar mevcuttur (7,10,65). Bu yöntemler sadece klinik laboratuvarında yapılan referans aralık analizlerini yapmak için geliştirilmemişlerdir. Daha önce başka bilimlerde uygulanan yöntemlerdir. Yukarıda sayılan istatistiki yöntemler iki farklı dağılımın gözlemlendiği bir referans verisinde dağılımlar birbirinden ayırmak esastır. Dekompozisyon şeklinde isimlendirilen bu teknikler referans verisindeki patolojik ve patolojik olmayan veya normal ve normal olmayan test verilerini ayırmaktadır (66).

Uygun istatistiki referans aralık yöntemi seçiminden sonra alt gruplandırma aşaması direkt örneklemede uygulandığı şekliyle indirekt örnekleme yönteminde de geçerlidir. Bu yüzden alt gruplandırma esasları, kriterleri ve ilgili istatistiki testlerinden tekrar bahsedilmeyecektir.

#### **2.4.3. Referans Aralık Transferi**

Direkt örnekleme ile referans aralık tesbiti zor ve pahalı bir iş olduğundan bir laboratuvardaki referans aralığın diğer bir laboratuvara transferi neredeyse masrafsız bir yoldur. Yeni test yöntemleri veya metodlar söz konusu olduğunda her bir laboratuvarın kendi referans aralıklarını oluşturmasını beklemek gerçekçi olmamaktır. Bu yüzden klinik laboratuvar yöneticileri diğer laboratuvarların veya cihaz firmalarının sundukları referans aralığı transfer etmektedirler (41).

Referans aralık transferinin uygun olabilmesi kriterleri şunlardır (47).

1) Transfer edilecek referans aralığın uygunluğu:

- Referans şahısların seçimi
- Kabul veya dışlama kriterleri
- Alt gruplandırmanın gerekliliği
- Uç değer analizi
- Yeterli referans değer sayısı
- Uygun istatistikî metod

2) Preanalitik faktörlerin kıyaslanabilir olması:

- Referans şahısların hazırlanması sırasındaki değişkenler
- Numune alınması sırasındaki değişkenler
- Numune işlenmesi sırasındaki değişkenler

3) Analitik metodun kıyaslanabilir olması:

- Aynı metodun ve/veya aynı cihazın kullanılması
- İnternal kalite kontrolün muntazam uygulanması ve değerlendirilmesi
- External kalite kontrol çalışmalarına dahil olunması ve değerlendirilmesi

4) Referans şahısların kıyaslanabilir olması

5) Gerekiyorsa geçerlendirme çalışmasının yapılması (47).

Kısaca, eğer transfer edilecek referans aralık analizi uygun şekilde yapılmışsa, peranalitik ve analitik sistemler sabit ve benzerse ve her iki populasyon arası farklılık yoksa direk örnekleme yoluyla referans aralık analizi yapmaya gerek yoktur (18).

Her laboratuvar transfer edeceği referans aralıkların uygunluğunu doğrulamalıdır. Doğrulama çalışması için iki farklı protokol vardır. Birincisi  $n=20$  ikicisi ise  $n=60$  protokoldür. Bu protokollere göre 20 veya 60 adet sağlıklı referans şahsın referans numuneleri alınır ve rutin hasta numunelerinin çalışıldığı şekliyle numuneler analiz edilir. Çıkan sonuçların transferi düşünülen referans aralığın dışında kalan sonuç sayısı  $n=20$  protokolu için birden fazla,  $n=60$  protokolu için üçden fazla ise referans aralık transfer edilmemelidir (47).



## 2.5. Klinik Laboratuvarlarda Kullanılan Referans Aralıkların Kökeni

Türkiye'deki klinik laboratuvarların referans aralığı nasıl tesbit ettiklerine dair bir çalışma bulunmamaktadır. Fakat direkt veya indirekt örnekleme yöntemi yapılmadan textbook veya cihaz insertlerine dayandırılarak referans aralıklarının transferi söz konusu olduğu düşünülmektedir. Referans aralık transferinin doğrulandığı ise bilinmemektedir.

Literatüre göre ABD'de laboratuvarların pratikte referans aralıkları nasıl tesbit ettiğine dair bilgi azdır (15). 2001'de yapılan 500 laboratuvarın iştirak ettiği bir Amerikan Patologları Derneği (College of American Pathologist; CAP) çalışmasında katılımcı laboratuvarların 390 tanesi (ABD'deki laboratuvarların % 78'ine tekabül etmektedir) firmaların belirlediği kit prospektüslerindeki referans aralıkları transfer etmişlerdir (21). Aynı çalışmaya göre laboratuvarların % 20'si firma referans aralıklarının transferi için firmalardan istatistiki konsültasyon, test materyal ve prosedürleri gibi çeşitli yardımlar almışlardır. 2004 senesindeki bir çalışmaya göre bir CAP programı olan Laboratuvar Akreditasyon Programına dahil edilen laboratuvarın %1,3'ünde referans aralıklarının doğrulanmadığı belirlenmiştir (18). 2007 senesine ait yine CAP bünyesinde yapılan bir kalite probu (Quality-Probes; Q-Probes) çalışması detaylı şekilde Amerikan klinik laboratuvarlarının referans aralıkları nasıl elde ettiklerini ortaya koymuştur (18). Bu çalışmanın bulgularını özetleyecek olursak; Laboratuvarların yaklaşık olarak yarısı erişkin referans aralıklarını direkt örnekleme yoluyla belirlediği, pediatrik hastaların referans aralıklarının ise laboratuvarların çoğu eksternal kaynaklardan transfer ettiği gözlenmiştir. Bu çalışmanın küçük bir kısmı Tablo 6'da gösterilmektedir (18).

Bununla beraber bu çalışmadaki katılımcı laboratuvarların direkt yöntem ile referans aralıkları belirlemede standart protokolleri uygulamadığı açıkça görülmektedir. Referans aralık tesbitinde standart olan en az 120 olması gereken referans şahıs sayısı bazı klinik laboratuvarlarda 50'nin altına kadar inebilmiştir. Çalışmanın bu kısmı Tablo 7'de gösterilmektedir.

**Tablo 6:** Q-Probes çalışmasına katılan laboratuvarların referans aralıkları elde etme yöntemleri (18).

Erişkin	Kurum sayısı (%)					
	Potasyum	Kalsiyum	Magnezyum	TSH	Hb (erkek)	Hb (bayan)
Sağlıklı kişi çalışması	70 (44,3)	70 (43,8)	70 (44,6)	75 (48,4)	85 (53,5)	83 (52,5)
Kit insertleri	55 (34,8)	56 (35,0)	57 (36,3)	46 (29,7)	17 (10,7)	18 (11,4)
Literatür	19 (12,0)	17 (10,6)	16 (10,2)	12 (7,7)	43 (27,0)	43 (27,2)
Diğer laboratuvarlar (Doğrulama yaparak)	8 (5,1)	9 (5,6)	8 (5,1)	10 (6,5)	8 (5,0)	8 (5,1)
Laboratuvarcı olmayan klinisyen tavsiyesi	2 (1,3)	4 (2,5)	2 (1,3)	4 (2,6)	3 (1,9)	3 (1,9)
Diğer laboratuvarlar (Doğrulama olmadan)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	2 (1,3)	1 (0,6)	1 (0,6)
Diğer	4 (2,5)	4 (2,5)	4 (2,5)	6 (3,9)	2 (1,3)	2 (1,3)
Çocuk	Kurum sayısı (%)					
Sağlıklı kişi çalışması	35 (25,2)	34 (24,1)	36 (25,9)	21 (15,7)	35 (23,8)	34 (23,0)
Kit insertleri	45 (32,4)	42 (29,8)	45 (32,4)	59 (44,0)	13 (8,8)	14 (9,5)
Literatür	42 (30,2)	44 (31,2)	43 (30,9)	33 (24,6)	75 (51,0)	75 (50,7)
Diğer laboratuvarlar (Doğrulama yaparak)	7 (5,0)	8 (5,7)	6 (4,3)	7 (5,2)	7 (4,8)	8 (5,4)
Laboratuvarcı olmayan klinisyen tavsiyesi	3 (2,2)	5 (3,5)	3 (2,2)	5 (3,7)	4 (2,7)	4 (2,7)
Diğer laboratuvarlar (Doğrulama olmadan)	1 (0,7)	2 (1,4)	1 (0,7)	4 (3,0)	10 (6,8)	10 (6,8)
Diğer	6 (4,3)	6 (4,3)	5 (3,6)	5 (3,7)	3 (2,0)	3 (2,0)

**Tablo 7:** Q-Probes çalışmasına katılan laboratuvarların referans aralık tesbitinde kullandığı sağlıklı denek sayısı (18)

<b>Belirli bir metodu kullanarak referans aralığı belirleyen laboratuvarların sayısı (%)</b>			
Test edilen sağlıklı denek sayısı	Sonuçların istatistiki analizini yaparak referans aralığı belirleyenler	Kit insertlerinde sunulan referans aralıklarla kıyaslayanlar	Toplam laboratuvar sayısı ve yüzdesi (%)
< 50	27	40	67 (54)
51 - 100	13	15	28 (23)
> 100	16	12	28 (23)
Toplam laboratuvar sayısı (%)	56 (46)	67 (54)	123 (100)

## 2.6. Referans Aralık Tespit Yöntemlerinin Mukayesesi

Referans aralığı meydana getirmenin üç farklı şekilde olabileceğini yukarıda açıklanmakla beraber bu üç yöntem arasında bir kıyas yapılması gerekmektedir. Bu üç yöntemden birisi direkt örnekleme yoluyla referans aralığın belirlenmesidir. Bu yöntem IFCC tarafından tavsiye edilen tek yöntemdir (5). Bu yöntem için gerekli olan en az 120 sağlıklı insanın çalışmaya dahil edilmesi ve eğer alt gruplandırma olacaksa her bir alt grup için yine en az 120 referans şahıs sayısına ulaşılması gerekir (47). Referans şahıs sayısı tek başına düşünüldüğünde bilhassa pediatrik ve geriatric hastalarda ve hamilelerde bu yöntem pratik değildir. Beyin Omurilik Sıvısı (BOS), eklem içi sıvı, aspirasyon sıvıları gibi az istenen numunelerde analiz edilen analitler için direkt yöntemle referans aralık tayini çok daha zor olabilir. Direkt yöntemin aynı anda masraflı olması da her bir laboratuvarın tek başına üstlenebileceği bir çalışma olamayacağını ispatlamaktadır. Ayrıca zaman kaybettirici ve emek gerektiren bir yöntem olduğu unutulmamalıdır (41).

Diğer bir yöntem ise indirek örnekleme yolu laboratuvar bilgisi sisteminde hasta test sonuçlarının olduğu veri kaynağına ulaşarak meydana getirilir. İndirek yöntem direkt yöntemin yerine geçen bir yöntem değildir (20). Direkt yöntemin

tamamlayıcısı olarak kabul edilmektedir. İndirekt yöntem için yapılan diğer eleştiri ise belirlenen referans aralıklarının istatistiki metod ve kriterlere bağlı olarak değişmesidir (46). İndirekt yöntemin avantajları ise gelişmiş bir laboratuvar bilgi sistemi olan her bir laboratuvarın neredeyse maliyeti olmadan, kısa bir sürede referans aralığı tesbit etmesidir. Bilhassa direkt örnekleme yönteminin uygulanamadığı hasta ve numune gruplarında kullanımı çok avantajlıdır (41).

Son olarak referans aralık transferiyle referans aralığın tesbitidir. Firma veya textbook temelli olan bu referans aralıklarının transferi laboratuvarlarda sık karşılaşılan bir uygulamadır (18). Bu yöneme yapılan eleştiri, referans aralığın tesbit edildiği çalışma şartları hakkında bilgi olmadığıdır. Referans aralık transfer edilirken daha önce açıklanan kriterlere göre transfer edilmesi şarttır. Çalışma dizaynı, kabul veya red kriterleri, uygun istatistiki yöntemin uygulanması, kıyaslanabilir referans aralıklar bu kriterler arasındadır. Ayrıca referans aralığı tesbit eden sistemin rutin laboratuvarında kullanılan yöntemle aynı analitik performansı göstermesi ve aynı preanalitik sisteme sahip olmasını gerektirmektedir. Referans aralık transfer edilmeden önce bu aralığın geçerlendirme çalışması ve sonrasında referans aralığın transfer edilip edilmemesi gerektiğine karar verilmesi gerekir. Böyle bir çalışma ise yine sağlıklı deneklerin seçimi ve numunelerinin alınmasını gerektirmektedir (47).

## 2.7. Referans Aralığın Sunumu

Referans aralık çalışmasının ayrıntıları ve referans popülasyonun özelliklerine dair bilgilerin laboratuvar hizmetini kullananlara temin edilmesi gerekir. Klinik laboratuvarında referans aralığı etkileyecek herhangi bir değişim olduğunda klinisyenler bundan haberdar olmalıdırlar. Laboratuvar testlerinin her biri için referans aralık bilgileri bir kitapçık şeklinde klinisyene sunulabilir. Bu kitapçıkta referans verisinin tanımları, analitik metodların isim ve performansları hakkında bilgileri içermelidir. Bununla beraber klinik laboratuvarın çalıştığı her bir test sonucu ve tesbit edilmiş referans aralığı ile beraber rapor edilmelidir. Referans aralık yaş, cinsiyet gibi faktörlerce alt gruplara ayrılmışsa hastaların aynı faktörler temelinde alt gruplandırılmış referans aralıklarının sunulmasını gerektirmektedir. Ayrıca referans aralık dışına çıkmış hasta sonuçları belirgin şekilde yazılacağı gibi düşük veya

yüksek anlamına gelen işaret veya kelimeler de kullanılmaktadır. Bununla birlikte hasta sonucunun istatistiki mesafeye göre ifade edilmesi de mümkündür (67). Bazı laboratuvarlar ise histogram şeklinde referans dağılımı bilgisayar ekranına yansıtmakta ve hasta sonucunun referans dağılımındaki yerini göstermektedir (16,45,68,69).

### 3. GEREÇ VE YÖNTEMLER

#### 3.1. Katılımcılar ve Verilerin Eldesi

01 Ocak 2010 - 01 Ocak 2011 tarihleri arasında Turgut Özal Tıp Merkezi polikliniklerine müracaat eden erişkin insanlardan istenen klinik laboratuvar testlerinden 14'ü retrospektif olarak incelemeye alındı. Hastanemiz laboratuvar bilgi sistemi olan ENLİL verileri kullanıldı. Acil ve servis hastalarının verileri genellikle sağlıklı bir referans popülasyon oluşturamayacağı için kullanılmadı (20,47). 18 yaşından küçük hastaların verileri çalışmadan çıkarıldı. 14 Analite ait referans verisinin daha ileride alt gruplandırılma yapılacağı için bir senelik zaman dilimi seçildi. Ancak, bazı analitler için yeterli olan "n" sayısına ulaşmak için bu müddet yeterli bulunmadı, uzatıldı. Hastaların tekrar eden analizleri varsa son analizleri çalışmaya alındı.

#### 3.2. Kullanılan Cihazlar ve Metodlara Dair Teknik Bilgiler

Hangi analitlerin ve/veya hangi cihazların çalışmaya dahil edilmesi gerektiği indirekt referans aralık tesbiti için uygunluk, yeterli analiz sayısı, cihazların teknik uygunluğuna göre belirlendi. Buna göre Tablo 8'de gösterilen cihazlar ve analitler seçildi.

Analiz yöntemleri numune olarak serumu kullanmaktadır. Sarı veya kırmızı kapaklı seperatör jeli olan tüplere alınan tam kan ilk 1 saat içinde santrifüj edildikten sonra analizörlere beklemeden verilmektedir.

**Tablo 8:** Çalışmada kullanılan klinik laboratuvar analizörleri ve çalışılan analitler ve yöntemleri.

Sıra No.	Analit	Birim	Yöntem	Cihaz
1	Demir	$\mu\text{g/dL}$	Ferene	Abbott Aeroset (70)
2	Demir bağlama kapasitesi	$\mu\text{g/dL}$	Ferene	Abbott Aeroset (71)
3	Ferritin	$\mu\text{g/L}$	Nefelometrik IA	Dade BN II (72)
4	TSH	IU/mL	İmmunometrik CEIA	Immulate 2000 (73)
5	Serbest T3	pg/mL	Yarışmalı CEIA	Immulate 2000 (74)
6	Serbest T4	pg/mL	Yarışmalı CEIA	Immulate 2000 (75)
7	Magnezyum	mg/dL	Arsenazo	Abbott Aeroset (76)
8	Total Kalsiyum	mg/dL	Arsenazo-III	Abbott Aeroset (77)
9	Fosfor	mg/dL	Fosfomolibdat	Abbott Aeroset (78)
10	PTH	pg/mL	İmmunometrik CEIA	Immulate 2000 (79)
11	Vitamin B12	pg/mL	Yarışmalı CEIA	Immulate 2000 (80)
12	Folat	ng/mL	Yarışmalı CEIA	Immulate 2000 (81)
13	Prolaktin	ng/mL	İmmunometrik CEIA	Immulate 2000 (82)
14	Total Kortizol	$\mu\text{g/dL}$	Yarışmalı CEIA	Immulate 2000 (83)

EIA, Enzyme Immonuassay (Enzim İmmunoassayı); CEIA, Chemiluminescent Enzyme Immonuassay (Kemiluminesan Enzim İmmunoassayı).

### 3.3. Kalite kontrol

Referans aralığın tesbitinde öncelikle analitik metodun doğruluğu, presizyonu, analitik sensitivite ve spesifitesi, interferans kaynakları, ölçüm aralığı bilinmelidir. Bilhassa metodun doğruluğu ve tekrarlanabilirliği kabul edilebilir sınırlar içinde olmalıdır. Her bir cihazın kalibratör ve kitleri aynı firmadan temin edildiğinden cihazların çalışması ve kalibrasyonu manual operation (cihazların el kitapları)'na göre yapıldı. Aynı lot numaralı kontrol serumları cihazları kuran firma tarafından temin edildi, ancak bazı testler için farklı marka kullanıldı.

Analitik metodun internal kalite ve eksternal kalite grafikleri veya dökümanları değerlendirildi. Günlük internal kalite kontrol ticari liyofilize serumlara ait en az 2 seviye olan kontrollerle yapılmaktadır. Analitik kalitenin değerlendirilmesi çoklu karar kurallarına göre yapılmaktadır. Günlük internal kalite kontrol çalışmalarında kabul edilebilir CV ve bias değerlere sahip olan ve / veya çoklu karar

kurallarına göre uygun çalışılan analitler çalışmaya alındı. Rutin olarak yapılan diğer kalite çalışması ise eksternal kalite uygulamasıdır. Duplike çalışılan eksternal kalite kontrol serumları analitik metodun geçmiş aylara ait çalışma doğruluğunu göstermektedir. Eksternal kalite kontrol çalışması ile doğrulanan analizler çalışmaya alındı. Referans aralıkların belirlenmesi için yapılan analizlerin kalite kontrollerinin güvenilir olarak yapılmış olması gereklidir.

### 3.4. İstatistik Analizler

Verilerin istatistiğe hazır hale getirilmesi için her bir analite ait veri ENLİL Laboratuvar Bilgi Sisteminde “numune kabul tarihi ve saati”ne göre sıralandırabilecek gerekli değişiklikler yapıldı. Analitlere ait sonuçlar tek dosyada yaş, cinsiyet, barkod no, dosya no, hasta adı ve soyadı, numune kabul tarihi ve saati verileriyle birlikte Microsoft Excel dosyasına aktarıldı. Çalışmanın sağlıklı olabilmesi için hasta adı ve soyadı olmayan, tekrar eden kayıtlar çalışma listesinden çıkarıldı. Böylelikle veriler istatistik testler için hazırlandı. Yapılan çalışmada analitler Tablo 8’deki sıraya göre değerlendirildi.

Verinin normalliğinin değerlendirilmesi Kolmogorov-Smirnov testine göre yapıldı. Horn ve arkadaşlarının uyguladığı şekilde, önce verinin Box-Cox dönüşümü yapıldı, sonra Boxplot yöntemiyle uç değer analizi yapıldı (20). Uç değer olduğu düşünülen test sonuçları çalışmaya alınmadı.

Uç değer analizinden sonra veri kadın ve erkek alt gruplarına ayrıldı. Cinsiyetlerin karşılaştırılmasında Gaussian dağılım gösteren değişkenler için bağımsız örneklerde- t testi Gaussian dağılım göstermeyen değişkenler için Mann-Whitney testi kullanıldı. Bu aşamada eğer alt gruplandırma gerekiyorsa veriler kadın ve erkek verisi olarak iki farklı kategoride incelenmeye alındı. İkinci bir alt gruplandırma ise aynı verinin yaş temelinde alt gruplandırması yapıldı. 18-30, 31-40, 41-50, 51-60, 61-70, 70 ve üzeri olmak üzere 6 alt grubu oluşturuldu. Üçüncü alt gruplandırma, numune alma zamanına göre saat: 08:00-09:00, 09:00-10:00, 10:00-11:00, 11:00-12:00, 12:00-13:00, 13:00-14:00, 14:00-15:00 olmak üzere toplam 7 alt grup oluşturuldu. Yaş ve saat alt grupları arasındaki anlamlı farklılığın tesbiti için verilerin dağılımı Gaussian ise tek yönlü varyans analizini (ANOVA), Gaussian



olmayan dağılım varlığında Kruskal-Wallis testini kullandık. Çoklu karşılaştırmalar tek yönlü varyans analizi sonrasında Student-Newman-Keuls testi, Kruskal-Wallis testi sonrası Conover testiyle yapıldı. Karşılaştırmalarda  $p < 0,05$  değeri önemli,  $p < 0,01$  değeri yüksek derecede önemli,  $p < 0,001$  değeri oldukça önemli olarak değerlendirildi.

CLSI'nın önerdiği şekilde parametrik olmayan yöntem kullanılarak referans aralıklar belirlendi (20). Parametrik olmayan yöntem % 2,5 ve % 97,5 persentil değerlerini referans aralık olarak kabul eder. Tesbit edilen referans aralıklar % 90 güven aralığı beraberinde sunuldu (15,48). İstatistiki analizler SPSS 16.0 ve MedCalc Version 12.4.2.0 programları kullanılarak yapıldı.

Elde edilen değerler tartışma bölümünde firma tarafından sunulan referans aralıklarla RCV değerleri kullanılarak kıyaslandı. Elde ettiğimiz her bir referans aralık limitini kıyasladığımız referans aralık limitinden çıkararak bulduğumuz değeri kendi limitimize böldüğümüzde ortaya çıkan yüzdelik farkı ilgili analitin % RCV değerine göre kıyasladık. Buna göre bulduğumuz yüzde farklılık RCV yüzdesinden yüksek ise klinik olarak referans aralıklar arası farklılık anlamlı kabul edildi. Yüzde farklılık değeri RCV değerinden düşük olduğunda referans aralıklar arası farklılık klinik açıdan anlamlı olmadığına karar verildi.

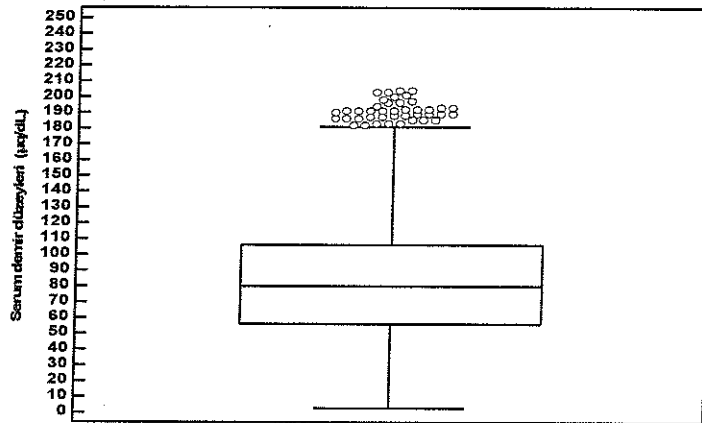
#### 4. BULGULAR

Bir analite ait bulgular incelenirken izlenen yol diğer analitlerdekine benzediğinden tekrar edilmedi, benzer şekilde sunuldu. Toplam 14 analiti incelerken önce analite ait verinin cinsiyet, yaş ve numune kabul saatleri alt grupları için n sayısı ve alt gruplar arası ortanca ve/veya ortalamalarla birlikte bunların ilgili testlerce kıyaslandığı “p” değerleri tablo halinde belirlendi. Numune kabul zamanları arasında anlamlı, istikrarlı bir farklılık olduğunda bu farklılığı gösteren şekilleri hazırladık. Son olarak referans aralığı içeren tablo hazırlandı.

##### 4.1. Serum Demiri

Demir analitine ait 01 Ocak 2010 – 01 Ocak 2011 arasında ENLİL laboratuvar bilgi sisteminden elde ettiğimiz 24732 hasta sonucu verisinden çocuk hastaları, serviste yatanları, acil girişli hastaları ve tekrar eden hasta testlerini çıkarttığımızda kalan veri sayısı 10737 idi. Bu sayının 4019’u erkek 6718’i bayan hastadan oluşmaktaydı.

İlk istatistiki işlem olarak uç değer analizi yapıldı. Öncelikle veriye Box-Cox dönüşümü uyguladıktan sonra Tukey veya Boxplot yöntemiyle uç değerleri belirledik. Bu örnek Şekil 3’de gösterilmektedir. Mavi noktalar uç değer olduğundan bu sonuçları çalışmaya almadık.



**Şekil 3:** Serum demir düzeyleri için yapılan uç değer analizi (n=10737).

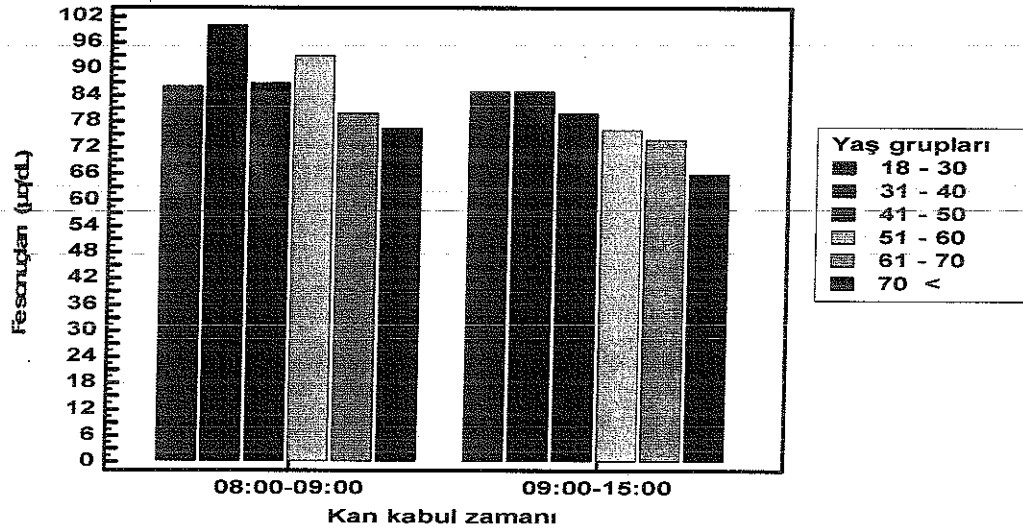
**Tablo 9 :** Serum demir düzeyi ( $\mu\text{g/dL}$ ) belirlenen kişi sayısı ve ortanca değerleriyle birlikte cinsiyet, numune kabul saatleri ve yaş grupları arasında karşılaştırmalar ve ilgili p değerleri.

Demir ( $\mu\text{g/dL}$ )		Saatler							Saatler arası karşılaştırmalar	
Yaş grupları		08:00-09:00 (1)	09:00-10:00 (2)	10:00-11:00 (3)	11:00-12:00 (4)	12:00-13:00 (5)	13:00-14:00 (6)	14:00-15:00 (7)	Erkek	Bayan
18-30 (a)	E	88 (94)	87 (190)	84 (162)	83 (136)	86 (59)	65 (18)	82 (48)	X	X
	B	49 (171)	53 (459)	55 (471)	54 (409)	53 (145)	62 (55)	50 (70)		
	p	***	***	***	***	***		***		
31-40 (b)	E	100 (119)	83 (186)	80 (162)	90 (120)	87 (32)	94 (15)	78 (18)	1#2.3.4 **	X
	B	52 (156)	48 (363)	50 (354)	47 (244)	53 (74)	58 (23)	44 (44)		
	p	***	***	***	***	***	*	*		
41-50 (c)	E	87 (153)	80 (220)	80 (177)	76 (122)	94 (33)	70 (20)	93 (27)	X	X
	B	50 (170)	47 (413)	49 (370)	54 (255)	51 (120)	37 (21)	51 (50)		
	p	***	***	***	***	***	**	***		
51-60 (d)	E	93 (148)	82 (262)	79 (179)	67 (149)	78 (39)	68 (16)	81 (26)	1#2.3.4 **	X
	B	68 (140)	65 (329)	57 (280)	62 (168)	68 (60)	57 (22)	62 (26)		
	p	***	***	***				*		
61-70 (e)	E	80 (87)	76 (172)	74 (165)	76 (97)	70 (47)	42 (9)	71 (18)	X	X
	B	68 (72)	60 (197)	61 (162)	61 (121)	64 (45)	65 (18)	50 (22)		
	p	**	**	**	***			*		
70 > (f)	E	76 (36)	69 (140)	69 (121)	60 (79)	65 (32)	53 (7)	55 (21)	X	X
	B	58 (37)	62 (117)	59 (96)	58 (84)	51 (34)	69 (14)	48 (6)		
	p	*								
Yaş grupları arasında karşılaştırmalar	Erkek	b#e *	a#c.d.e.f b.c.d#f ***	f#a.b *	a#d.e.f b#e.f c.d#f ***	f#a.b.c **	X	X		
	Bayan	abc#de; d#f ***	abc#def ***	bc#aef ***	d#abc; b#e *	X	X	X		

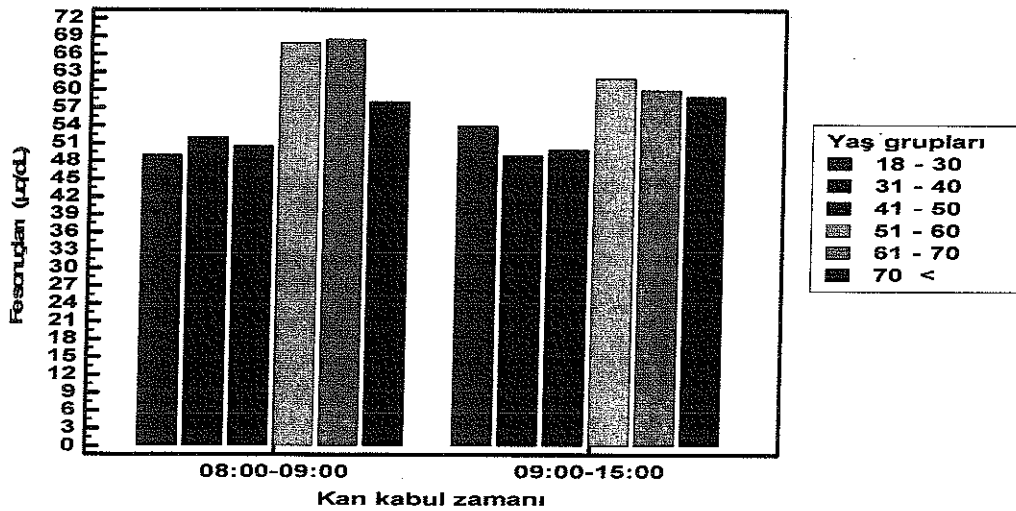
Farkın anlamlılığı \* $p < 0,05$ , \*\* $p < 0,01$ , \*\*\* $p < 0,001$  ile belirtilmiştir. Küçük harflerle gösterilen yaş grupları arasındaki karşılaştırmalar anlamlılık derecesine göre \*, \*\*, \*\*\* ile gösterilmiştir. "X" karşılaştırmaların anlamlı bulunmadığını göstermektedir. "≠" yaş ve saatler arası anlamlı farklılık olduğunu göstermektedir. Parantez içinde gösterilen "n" denek sayısını ifade etmektedir.

Tablo 9'a göre yaş gruplarının çoğunda serum demir düzeyleri için erkek ve bayanlar arasında istatistiki olarak anlamlı farklılık bulundu (\* $p < 0,05$ , \*\* $p < 0,01$ , \*\*\* $p < 0,001$ ). Yaş alt grupları açısından özellikle bayanlarda 50 ve sonrası yaşlarda anlamlı düşüşler gözlenmektedir (\*\*\* $p < 0,001$ ). Aynı tabloya göre sadece erkek alt grubunda 31-40, 51-60 yaş alt gruplarında numune kabul saatleri arasında anlamlı

farklılık gözlemlendi (\*\*p< 0,01). Numune alma zamanına göre serum demir düzeylerindeki azalma erkeklerde 51-60 ile 31-40 yaş alt gruplarında daha anlamlı (\*\*p<0,01) görüldüğü için alt gruplandırma saat 08:00-09:00 ile 09:00-15:00 şeklinde düzenlendi ve Şekil 4 (erkeklerde) ve Şekil 5'te (bayanlarda) gösterildi.



Şekil 4: Erkeklerde serum demir düzeylerinin farklı yaş alt gruplarında numune kabul zamanları arasındaki anlamlı farklılık.



Şekil 5: Bayanlarda serum demir düzeylerinin farklı yaş alt gruplarında numune kabul zamanları arasındaki anlamlı farklılık.

Son aşamada referans aralıkların belirlenmesi için parametrik olmayan yöntem uygulandı. Merkezi % 95'lik kısım olan 2, 5 ve 97, 5 persentil değerleri, % 90 güven aralıkları ile beraber Tablo 10'da gösterildi. Ancak bazı alt gruplarda veri sayısı yeterli bulunamadığından % 95 güven aralığı hesaplanamamıştır.

**Tablo 10:** Serum demirine ( $\mu\text{g}/\text{dL}$ ) ait indirekt yöntemle bulunan referans aralıklar.

Demir	Erkek				Bayan			
	08:00-09:00		09:00-15:00		08:00-09:00		09:00-15:00	
Yaş	Referans aralık	% 90 G.A.	Referans aralık	% 90 G.A.	Referans aralık	% 90 G.A.	Referans aralık	% 90 G.A.
18 - 30	27 - 172	-	33 - 174	28-37 162-185	11 - 159	10-12 143-175	11 - 148	11-12 143-152
31 - 40	46 - 184	-	35 - 158	27-139 150-178	12 - 148	10-14 128-165	12 - 137	11-12 129-143
41 - 50	39 - 160	35-47 154-171	31 - 159	29-35 150-165	15 - 122	11-17 117-156	12 - 132	11-12 121-140
51 - 60	38 - 179	-	29 - 160	127-33 147-170	19 - 129	-	17 - 129	14-21 126-138
61 - 70	35 - 146	-	29 - 152	27-32 140-170	15 - 122	-	14 - 119	11-18 116-124
70 <	27 - 158	-	27 - 139	26-28 126-156	17 - 111	-	15 - 128	12-20 112-137

(-) n sayısı yeterli olmadığından (denek sayısı yeterli bulunmadığından) % 90 güven aralığı belirlenememiştir.

#### 4.2. Serum Demir Bağlama Kapasitesi (SDBK)

SDBK verisi 3428'i erkek, 6010'u bayan olmak üzere toplam 9438 kişiden oluşmaktadır. SDBK ( $\mu\text{g}/\text{dL}$ ) düzeyine ait veriler Tablo 11'de gösterilmektedir.

**Tablo 11:** Serum SDBK düzeyi ( $\mu\text{g/dL}$ ) belirlenen kişi sayısı ve aritmetik ortalama değerleriyle birlikte cinsiyet, numune kabul saatleri ve yaş grupları arasında karşılaştırmalar ve ilgili p değerleri.

SDBK ( $\mu\text{g/dL}$ )		Saatler							Saatler arası karşılaştırmalar	
Yaş grupları		08:00-09:00 (1)	09:00-10:00 (2)	10:00-11:00 (3)	11:00-12:00 (4)	12:00-13:00 (5)	13:00-14:00 (6)	14:00-15:00 (7)	Erkek	Bayan
18-30 (a)	E	231 (86)	236 (172)	259 (141)	247 (118)	250 (51)	237 (16)	237 (44)	X	X
	B	314 (177)	315 (476)	308 (456)	301 (346)	304 (118)	300 (44)	294 (52)		
	p	***	***	***	***	***	***	***		
31-40 (b)	E	238 (118)	218 (167)	248 (133)	325 (93)	237 (24)	218 (12)	234 (17)		
	B	313 (163)	324 (369)	322 (315)	321 (211)	310 (58)	341 (17)	302 (37)		
	p	***	***	***	***	***	*	*		
41-50 (c)	E	253 (147)	249 (188)	251 (177)	245 (103)	239 (29)	248 (18)	263 (23)		
	B	309 (190)	316 (400)	322 (318)	306 (208)	315(91)	311 (19)	316 (40)		
	p	***	***	***	***	***	***	***		
51-60 (d)	E	232 (146)	243 (225)	245 (143)	253 (114)	257 (31)	274 (15)	225 (18)		
	B	274 (138)	283 (311)	283 (246)	286 (135)	279 (510)	285 (16)	288 (24)		
	p	***	***	***	***	***	***	**		
61-70 (e)	E	247 (84)	246 (160)	248 (141)	143 (81)	262 (36)	257 (7)	254 (14)		
	B	256 (73)	264 (185)	137 (265)	274 (105)	262 (36)	265 (18)	266 (17)		
	p	*	***	***	**	***	***	*		
70 < (f)	E	238 (46)	250 (130)	229 (123)	237 (68)	221 (33)	216 (8)	238 (15)		
	B	286 (45)	255 (128)	254 (104)	256 (94)	260 (35)	246 (14)	243 (6)		
	p	*	***	**	*	***	***	***		
Yaş grupları arasında karşılaştırmalar	Erkek	X								
	Bayan	a#b.c.d.e.f; b.c#d.e.f; d#e.f ***								

Tablo 11'e göre SDBK düzeyleri için erkek ve bayanlar arasında istatistiki olarak (eşleşmemiş t-testine göre) genellikle anlamlı farklılık bulundu (\* $p < 0,05$ , \*\* $p < 0,01$ , \*\*\* $p < 0,001$ ). Yaş grupları açısından erkeklerde anlamlı farklılık görülmezken bayanlarda anlamlı farklılıklar bulunmuştur (\*\*\* $p < 0,001$ ). Aynı tabloda görüleceği üzere erkek ve bayan alt gruplarında numune kabul saatleri arasında anlamlı farklılık gözlenmedi ( $p > 0,05$ ). Parametrik olmayan yöntemle elde edilen referans aralık limitleri, % 90 güven aralıkları ile beraber Tablo 12'de gösterilmektedir.

**Tablo 12:** SDBK'ne ( $\mu\text{g/dL}$ ) ait indirekt yöntemle elde edilen referans aralıklar.

UIBC	Erkek		Bayan	
	Referans aralık	% 90 G.A.	Referans aralık	% 90 G.A.
18 - 30	138 - 396	135-141 / 389-401	161 - 483	150-168 / 475-490
31 - 40			172 - 469	163-181 / 463-475
41 - 50			177 - 471	166-186 / 464-482
51 - 60			156 - 441	145-169 / 425-452
61 - 70			158 - 429	149-165 / 416-441
70 <-			137 - 444	129-160 / 435-464

### 4.3. Serum Ferritini

Serum ferritin verisi 258'i erkek, 719'u bayan olmak üzere toplam 977 kişiden oluşmaktadır. Serum ferritin düzeyine ( $\mu\text{g/L}$ ) ait veriler Tablo 13'te gösterilmektedir.

Tablo 13'e göre serum ferritin düzeyleri için erkek ve bayanlar arasında 18-30, 31-40, 41-50 yaş alt gruplarında istatistiki olarak anlamlı farklılık bulundu (\* $p < 0,05$ , \*\* $p < 0,01$ , \*\*\* $p < 0,001$ ). Yaş grupları arasında anlamlı farklılık sadece bayanlarda bulundu (\*\*\* $p < 0,001$ ). Ancak erkek ve bayanlarda numune kabul saatleri arasında anlamlı farklılık gözlenmedi ( $p > 0,05$ ). Parametrik olmayan yöntemle elde edilen referans aralık limitleri, % 90 güven aralıkları ile beraber Tablo 14'te gösterilmektedir.

**Tablo 13:** Serum ferritin düzeyi ( $\mu\text{q/L}$ ) belirlenen kişi sayısı ve aritmetik ortalama değerleriyle birlikte cinsiyet, numune kabul saatleri ve yaş grupları arasında karşılaştırmalar ve ilgili p değerleri.

Ferritin ( $\mu\text{q/L}$ )		Saatler							Saatler arası karşılaştırmalar	
Yaş grupları		08:00-09:00 (1)	09:00-10:00 (2)	10:00-11:00 (3)	11:00-12:00 (4)	12:00-13:00 (5)	13:00-14:00 (6)	14:00-15:00 (7)	Erkek	Bayan
18-30 (a)	E	80 (5)	60 (17)	42 (15)	89 (7)	111 (7)	19 (5)	--	*	*
	B	20 (27)	25 (67)	22 (59)	24 (62)	20 (18)	--			
	p	**	***	**	***	*				
31-40 (b)	E	85 (5)	83 (14)	76 (20)	109 (6)	65 (4)	--	19 (5)		
	B	21 (13)	24 (44)	23 (27)	18 (32)	19 (6)				
	p	***	**	***	***	**				
41-50 (c)	E	168 (5)	103 (11)	48 (10)	79 (6)	28 (9)	--	--		
	B	27 (14)	32 (48)	28 (36)	31 (23)					
	p	*	*	*						
51-60 (d)	E	70 (7)	62 (13)	71 (14)	93 (6)	44 (5)	--	--		
	B	65 (17)	41 (42)	51 (26)	51 (13)					
	p									
61-70 (e)	E	80 (87)	67 (8)	110 (11)	27 (7)	94 (5)	--	--		
	B	68 (72)	87 (8)	66 (16)	50 (13)					
	p									
70 < (f)	E		37 (10)	45 (4)	72 (7)	--	--	--		
	B	52 (4)	147 (10)	54 (8)	45 (7)					
	p									
Yaş grupları arasında karşılaştırmalar	Erkek	*							a.b.c#d.e.f	***
	Bayan	a.b.c#d.e.f								

**Tablo 14:** Serum ferritine ( $\mu\text{q/L}$ ) ait indirekt yöntemle elde edilen referans aralıklar

Ferritin	Erkek		Bayan	
	Referans aralık	% 90 G.A.	Referans aralık	% 90 G.A.
18 - 50	12 - 292	10,4-13,5 / 258-349	10 - 117	10,1-10,8 / 76-132
51 <			13 - 223	9,8-15,8 / 181-251



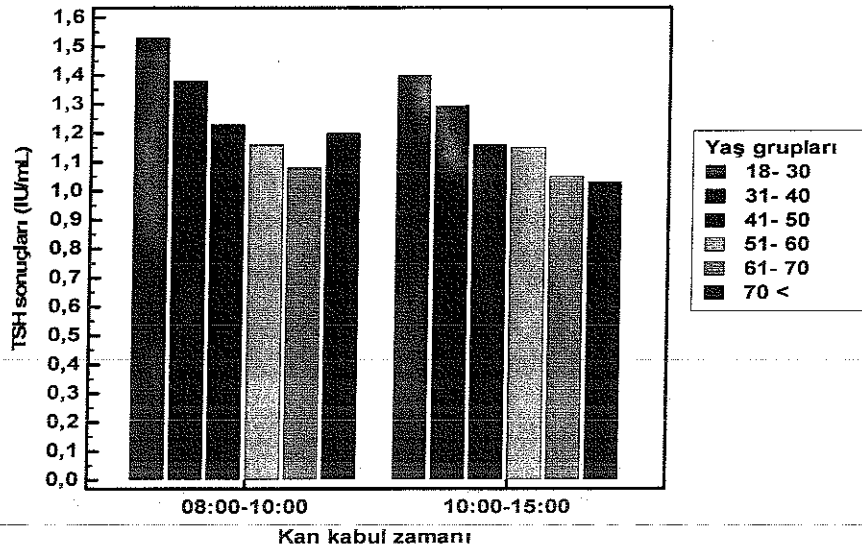
#### 4.4. Serum TSH

Serum TSH verisi 5816'sı erkek, 11981'i bayan olmak üzere toplam 17797 kişiden oluşmaktadır. Serum TSH düzeyine (IU/mL) ait veriler Tablo 15'de gösterilmektedir.

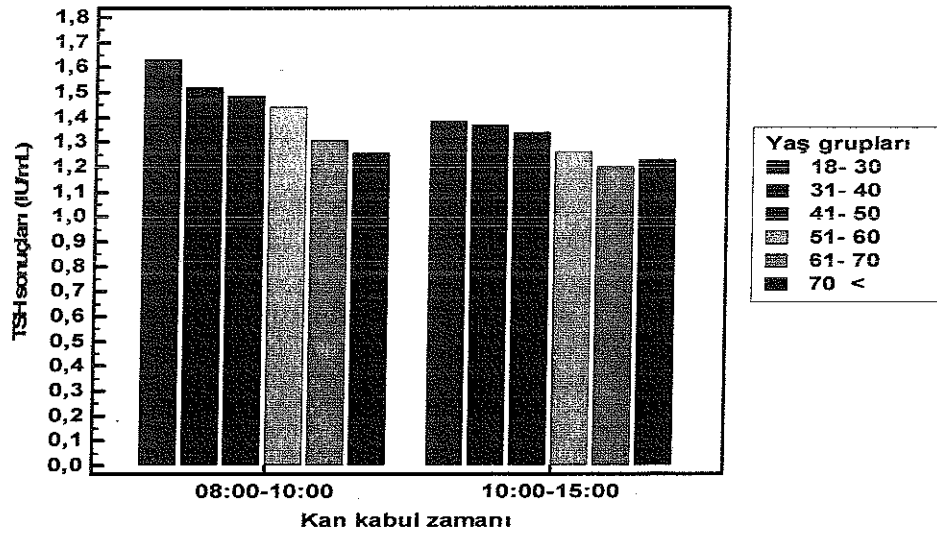
Tablo 15'e göre serum TSH için bazı yaş gruplarında erkek ve bayanlar arasında istatistiki olarak genellikle anlamlı farklılık bulundu (\* $p < 0,05$ , \*\* $p < 0,01$ , \*\*\* $p < 0,001$ ). Her iki cinste de yaş grupları arasında anlamlı farklılıklar bulundu (\* $p < 0,05$ , \*\* $p < 0,01$ , \*\*\* $p < 0,001$ ). Bununla birlikte erkeklerde numune kabul saatleri arasında anlamlı farklılık gözlenmedi ( $p > 0,05$ ). Bayan alt grubunun bütün yaş gruplarında numune kabul saatleri arasında anlamlı farklılık gözlendi (\* $p < 0,05$ , \*\* $p < 0,01$ , \*\*\* $p < 0,001$ ). Numune alma zamanına göre TSH düzeylerindeki azalma bayanlarda 18-30 ile 51-60 yaş alt gruplarında daha anlamlı (Kruskal-Wallis testine göre \*\*\* $p < 0,001$ ) görüldüğü için alt gruplandırma saat 08:00-10:00 ile 10:00-15:00 şeklinde düzenlendi ve Şekil 6 (erkeklerde) ve Şekil 7'de (bayanlarda) gösterildi.

**Tablo 15:** Serum TSH düzeyi (IU/mL) belirlenen kişi sayısı ve ortanca değerleriyle birlikte cinsiyet, numune kabul saatleri ve yaş grupları arasında karşılaştırmalar ve ilgili p değerleri.

TSH (IU/mL)		Saatler							Saatler arası karşılaştırmalar	
Yaş grupları		08:00-09:00 (1)	09:00-10:00 (2)	10:00-11:00 (3)	11:00-12:00 (4)	12:00-13:00 (5)	13:00-14:00 (6)	14:00-15:00 (7)	Erkek	Bayan
18-30 (a)	E	1,42 (118)	1,56 (342)	1,46 (342)	1,41 (266)	1,40 (88)	1,32 (26)	1,26 (70)	✕	1.2#3.4.5.6.7 3.4.5#6 ***
	B	1,65 (258)	1,61 (844)	1,41 (902)	1,38 (717)	1,40 (236)	1,19 (78)	1,40 (109)		
	p									
31-40 (b)	E	1,42 (123)	1,37 (307)	1,34 (271)	1,29 (210)	1,31 (59)	0,94 (24)	1,23 (44)	✕	1#3.4.5.6.7 2#3.4.5.7 **
	B	1,55 (215)	1,49 (728)	1,39 (674)	1,37 (548)	1,31 (179)	1,37 (49)	1,29 (93)		
	p		**				*			
41-50 (c)	E	1,27 (144)	1,22 (351)	1,16 (289)	1,16 (200)	1,07 (66)	1,09 (29)	1,42 (28)	✕	1.2#3.4.5.6. 3.4.5#6 **
	B	1,46 (229)	1,51 (831)	1,35 (751)	1,33 (540)	1,31 (207)	1,24 (49)	1,42 (78)		
	p	**	***	**	***					
51-60 (d)	E	1,17 (138)	1,16 (386)	1,19 (292)	1,04 (193)	1,12 (50)	1,54 (12)	1,25 (33)	✕	1#2.3.4.5.7 2.3.4#5 ***
	B	1,57 (192)	1,38 (643)	1,27 (514)	1,27 (374)	1,07 (119)	1,36 (30)	1,23 (51)		
	p	***	***	*	***					
61-70 (e)	E	1,38 (92)	1,09 (271)	1,15 (227)	1,01 (141)	1,04 (58)	1,01 (8)	0,81 (17)	✕	2#3.4 *
	B	1,16 (94)	1,36 (389)	1,20 (301)	1,27 (215)	1,2 (71)	1,20 (29)	1,07 (25)		
	p		***		*					
70 < (f)	E	1,14 (51)	1,21 (174)	1,13 (149)	1,07 (107)	0,84 (50)	0,79 (13)	0,87 (19)	✕	✕
	B	1,31 (46)	1,22 (180)	1,25 (173)	1,15 (133)	1,35 (60)	0,97 (9)	0,89 (17)		
	p			*		**	***			
Yaş grupları arasında karşılaştırmalar	Erkek	a#c.d.e.f b.c#e **	a#b.c.d.e.f b#d.e.f c#e ***	a#b.c.d.e.f b#d.e.f ***	a#b.c.d.e.f b#c.d.e.f ***	a.b#f ***	a.b#e.f, c#f *	✕		
	Bayan	e#a.b.c.d a#f ***	a.b.c#d.e.f d.e#f ***	a.b.c.d.#e a#d ***	a.b#e f#a.b.c.d **	f#a.b.c *	a.c#f, c#e *	✕		



**Şekil 6:** Erkeklerde serum TSH düzeylerinin farklı yaş alt gruplarında numune kabul zamanları arasındaki anlamlı farklılık.



**Şekil 7:** Bayanlarda serum TSH düzeylerinin farklı yaş alt gruplarında numune kabul zamanları arasındaki anlamlı farklılık

Parametrik olmayan yöntemle elde edilen referans aralık limitleri, % 90 güven aralıkları ile beraber Tablo 16'da gösterilmektedir.

**Tablo 16:** Serum TSH (IU/mL)'ya ait indirekt yöntemle elde edilen referans aralıklar.

TSH	Erkek				Bayan			
	08:00-10:00		10:00-15:00		08:00-10:00		10:00-15:00	
	Referans aralık	% 90 G.A.	Referans aralık	% 90 G.A.	Referans aralık	% 90 G.A.	Referans aralık	% 90 G.A.
18 - 30	0,43- 4,14	0,37-0,48 3,82-4,80	0,50-3,82	0,44-0,56 3,76-4,11	0,46- 4,74	0,41-0,51 4,52-4,94	0,43-4,19	0,40-0,47 4,00-4,43
31 - 40	0,41- 3,76	0,31-0,48 3,44-4,22	0,40-3,52	0,34-0,46 3,26-3,92	0,46- 4,75	0,37-0,49 4,30-5,00	0,38-4,41	0,35-0,41 4,13-4,90
41 - 50	0,39-3,89	0,30-0,46 3,50-4,58	0,40-3,58	0,31-0,46 2,95-4,25	0,34- 4,96	0,30-0,38 4,74-5,12	0,35-4,39	0,31-0,39 4,19-4,66
51 - 60	0,32-3,65	0,28-0,39 3,16-4,70	0,32-3,82	0,29-0,35 3,23-4,36	0,38- 5,02	0,32-0,41 4,56-5,30	0,34-4,39	0,30-0,37 4,14-4,87
61 - 70	0,30- 3,25	0,28-0,36 2,86-3,84	0,33-3,33	0,27-0,36 3,05-3,62	0,32- 4,87	0,29-0,38 4,27-5,31	0,32-4,68	0,30-0,35 4,10-5,22
70 <	0,31-3,57	0,26-0,33 3,11-4,68	0,32-3,12	0,27-0,35 2,88-3,76	0,30- 4,54	0,26-0,40 3,71-5,22	0,33-4,47	0,27-0,41 3,57-4,89

#### 4.5. Serum Serbest T<sub>3</sub>

Serum serbest T<sub>3</sub> verisi 3897'si erkek, 5922'si bayan olmak üzere toplam 9819 kişiden oluşmaktadır. Serum serbest T<sub>3</sub> düzeyine (pg/mL) ait veriler Tablo 17'de gösterilmektedir.

Tablo 17'ye göre serum serbest T<sub>3</sub> düzeyleri için erkek ve bayanlar arasında istatistiki olarak genellikle anlamlı farklılık gözlenmedi ( $p>0,05$ ). Yaş grupları arasında anlamlı farklılıklar görüldü ( $***p<0,001$ ). Aynı tabloya göre serum serbest T<sub>3</sub> düzeyleri incelendiğinde için erkek ve bayanların 18-30 ve 70 üstü alt gruplarında numune kabul saatleri arasında anlamlı farklılık gözlendi ( $*p<0,05$ ). Parametrik olmayan yöntemle elde edilen referans aralık limitleri, % 90 güven aralıkları ile beraber Tablo 18'de gösterilmektedir.

**Tablo 17:** Serum serbest T<sub>3</sub> düzeyi (pg/mL) belirlenen kişi sayısı ve aritmetik ortalama değerleriyle birlikte cinsiyet, numune kabul saatleri ve yaş grupları arasında karşılaştırmalar ve ilgili p değerleri.

Serbest T <sub>3</sub> (pg/mL)		Saatler							Saatler arası karşılaştırmalar
Yaş grupları		08:00-09:00 (1)	09:00-10:00 (2)	10:00-11:00 (3)	11:00-12:00 (4)	12:00-13:00 (5)	13:00-14:00 (6)	14:00-15:00 (7)	Erkek ve Bayan
18-30 (a)	E	4,1 (75)	4,0 (204)	4,0 (193)	3,9 (143)	4,1 (51)	3,8 (19)	4,0 (48)	2≠4 *
	B	4,0 (143)	4,1 (391)	4,0 (379)	3,8 (277)	4,0 (94)	3,8 (37)	3,9 (59)	
	p		*						
31-40 (b)	E	4,0 (102)	4,1 (195)	4,0 (173)	3,8 (133)	3,8 (37)	4,0 (14)	4,1 (14)	×
	B	3,8 (138)	3,9 (372)	3,9 (282)	3,9 (199)	3,9 (79)	3,9 (25)	3,8 (42)	
	p	**	*					**	
41-50 (c)	E	3,8 (123)	3,9 (233)	3,9 (189)	3,7 (120)	4,0 (41)	3,5 (19)	3,8 (133)	×
	B	3,8 (147)	3,9 (417)	3,8 (339)	3,8 (215)	3,9 (103)	3,6 (24)	3,9 (199)	
	p			*					
51-60 (d)	E	3,8 (90)	3,8 (285)	3,7 (201)	3,8 (126)	3,8 (32)	3,7 (9)	3,8 (21)	×
	B	3,8 (127)	3,8 (257)	3,7 (272)	3,7 (177)	3,8 (58)	3,4 (14)	3,7 (23)	
	p								
61-70 (e)	E	3,8 (63)	3,8 (217)	3,6 (154)	3,5 (91)	3,6 (40)	3,6 (4)	3,5 (16)	×
	B	3,7 (69)	3,6 (240)	3,6 (179)	3,6 (131)	3,6 (42)	3,5 (18)	3,5 (13)	
	p								
70 < (f)	E	3,6 (39)	3,5 (126)	3,4 (105)	3,2 (67)	3,3 (39)	4,0 (8)	3,2 (15)	1≠5 *
	B	3,6 (37)	3,4 (123)	3,4 (98)	3,4 (88)	3,3 (35)	3,3 (9)	3,3 (10)	
	p								
Yaş grupları arasında karşılaştırmalar Erkek ve Bayan		a.b.c.d≠f a≠e ***	a≠b.c.d.e.f b.c≠d.e.f d≠e.f, e≠f ***	a.b≠c.d.e.f c≠d.e.f d.e≠f, e≠f ***	a.b.c.d≠f a≠d, e≠f ***	a.b.c.d.e≠f a≠d, e≠f ***	×	a.b.c.d.e≠f ***	

**Tablo 18:** Serum serbest T<sub>3</sub> (pg/mL) için indirekt yöntemle bulunan referans aralıkları.

Serbest T <sub>3</sub>	Erişkin	
	Referans aralık	% 90 G.A.
18 - 30	2,8 - 5,3	2,7-2,8 / 5,3-5,4
31 - 40	2,7 - 5,3	2,6-2,7 / 5,2-5,3
41 - 50	2,6 - 5,2	2,5-2,7 / 5,2-5,3
51 - 60	2,5 - 5,2	2,4-2,6 / 5,1-5,3
61 - 70	2,4 - 5,1	2,3-2,4 / 5,0-5,3
70 <	2,2 - 4,9	2,2-2,3 / 4,7-5,1

#### 4.6. Serum Serbest T<sub>4</sub>

Serum serbest T<sub>4</sub> verisi 5161'i erkek, 9925'i bayan olmak üzere toplam 15086 kişiden oluşmaktadır. Serum serbest T<sub>4</sub> düzeyine (pg/mL) ait veriler Tablo 19'da gösterilmektedir.

**Tablo 19:** Serum serbest T<sub>4</sub> düzeyi (pg/mL) belirlenen kişi sayısı ve aritmetik ortalama değerleriyle birlikte cinsiyet, numune kabul saatleri ve yaş grupları arasında karşılaştırmalar ve ilgili p değerleri.

Serbest T <sub>4</sub> (pg/mL)		Saatler							Saatler arası karşılaştırmalar	
Yaş grupları		08:00-09:00 (1)	09:00-10:00 (2)	10:00-11:00 (3)	11:00-12:00 (4)	12:00-13:00 (5)	13:00-14:00 (6)	14:00-15:00 (7)	Erkek	Bayan
18-30 (a)	E	1,19 (123)	1,15 (314)	1,18 (294)	1,17 (230)	1,16 (68)	1,17 (23)	1,18 (64)	✕	
	B	1,11 (292)	1,12 (788)	1,11 (719)	1,13 (524)	1,13 (179)	1,14 (54)	1,13 (80)		
	p	***	***	***	***					
31-40 (b)	E	1,16 (138)	1,16 (292)	1,15 (237)	1,14 (173)	1,17 (46)	1,14 (22)	1,12 (34)	✕	2#3.4
	B	1,11 (258)	1,10 (671)	1,07 (548)	1,07 (349)	1,05 (116)	1,12 (31)	1,07 (61)		
	p	***	***	***	***	**				
41-50 (c)	E	1,14 (155)	1,15 (312)	1,12 (246)	1,12 (169)	1,11 (56)	1,18 (21)	1,13 (22)	✕	✕
	B	1,09 (273)	1,08 (758)	1,08 (594)	1,07 (366)	1,08 (147)	1,17 (27)	1,08 (58)		
	p	**	***	***	***					
51-60 (d)	E	1,11 (137)	1,12 (360)	1,14 (240)	1,09 (154)	1,14 (42)	1,10 (9)	1,04 (27)	✕	✕
	B	1,12 (210)	1,10 (634)	1,11 (417)	1,10 (275)	1,13 (89)	1,05 (20)	1,07 (37)		
	p									
61-70 (e)	E	1,09 (95)	1,10 (253)	1,12 (192)	1,16 (117)	1,08 (48)	1,09 (6)	1,08 (14)	✕	✕
	B	1,13 (114)	1,10 (353)	1,12 (212)	1,09 (166)	1,05 (53)	1,15 (26)	1,10 (18)		
	p									
70 < (f)	E	1,11 (47)	1,13 (137)	1,13 (109)	1,08 (74)	1,09 (38)	1,22 (7)	1,07 (16)	✕	✕
	B	1,13 (40)	1,12 (146)	1,14 (102)	1,0 (88)	1,08 (27)	1,11 (12)	1,12 (8)		
	p									
Yaş grupları arasında karşılaştırmalar	Erkek	a.b#c.d.e.f; a#b; c#d								
	Bayan	b.c#d.e.f; a#b.c.d; d#f								
		***								
		***								

Tablo 19'a göre serum serbest T<sub>4</sub> düzeyleri için 18-30, 31-40, 41-50 yaş alt grubu erkek ve bayanlar arasında istatistiki olarak anlamlı farklılık bulundu (\*p<0,05, \*\*p<0,01, \*\*\*p<0,001). Yaşa göre her iki cinste de anlamlı farklılıklar

belirlendi ( $***p<0,001$ ). Tablo 19'a göre sadece bayan alt grubunun sadece 31-40 yaş alt grubunda numune kabul saatleri arasında anlamlı farklılık gözlemlendi ( $*p<0,05$ ). Parametrik olmayan yöntemle elde edilen referans aralık limitleri, % 90 güven aralıkları ile beraber Tablo 20'de gösterilmektedir.

**Tablo 20:** Serum serbest T4'üne (pg/mL) ait indirekt yöntemle elde edilen referans aralıklar.

Serbest T4	Erkek		Bayan	
	Referans aralık	% 90 G.A.	Referans aralık	% 90 G.A.
18 - 30	0,89 - 1,51	0,87-0,91 / 1,48-1,54	0,85 - 1,46	0,83-0,86 / 1,45-1,49
31 - 40	0,85 - 1,51	0,83-0,87 / 1,46-1,55	0,82 - 1,45	0,80-0,83 / 1,42-1,48
41 - 50	0,86 - 1,50	0,84-0,88 / 1,46-1,54	0,82 - 1,45	0,81-0,83 / 1,44-1,49
51 <	0,83 - 1,50	0,81-0,84 / 1,48-1,53	0,83 - 1,52	0,81-0,85 / 1,51-1,54

#### 4.7. Serum Magnezyumu

Serum magnezyum verisi 3884'ü erkek, 5455'i bayan olmak üzere toplam 9339 kişiden oluşmaktadır. Serum magnezyum düzeyine (mg/dL) ait veriler Tablo 21'de gösterilmektedir.

Tablo 21'e göre serum magnezyum düzeyleri için bazı yaş gruplarında erkek ve bayanlar arasında istatistiki olarak anlamlı farklılık bulundu ( $*p<0,05$ ,  $**p<0,01$ ,  $***p<0,001$ ). Yaşa göre her iki cinsten de anlamlı farklılıklar belirlendi ( $*p<0,05$ ). Numune kabul saatleri arasında anlamlı farklılık sadece erkek alt grubunun 41-50, 61-70 yaş alt gruplarında gözlemlendi ( $*p<0,05$ ,  $**p<0,01$ ). Parametrik olmayan yöntemle elde edilen referans aralık limitleri, % 90 güven aralıkları ile beraber Tablo 22'de gösterilmektedir.

**Tablo 21:** Serum magnezyum düzeyi (mg/dL) belirlenen kişi sayısı ve ortalama değerleriyle birlikte cinsiyet, numune kabul saatleri ve yaş grupları arasında karşılaştırmalar ve ilgili p değerleri.

Magnezyum (mg/dL)		Saatler							Saatler arası karşılaştırmalar	
Yaş grupları		08:00-09:00 (1)	09:00-10:00 (2)	10:00-11:00 (3)	11:00-12:00 (4)	12:00-13:00 (5)	13:00-14:00 (6)	14:00-15:00 (7)	Erkek	Bayan
18-30 (a)	E	2,5 (68)	2,5 (148)	2,4 (130)	2,5 (125)	2,5 (38)	2,4 (16)	2,4 (32)	*	*
	B	2,4 (116)	2,4 (257) ***	2,4 (272) **	2,4 (220)	2,4 (61)	2,5 (31)	2,4 (37)		
	p									
31-40 (b)	E	2,5 (116)	2,5 (186)	2,5 (165)	2,5 (116)	2,5 (34)	2,5 (15)	2,4 (18)	*	*
	B	2,4 (108)	2,4 (254) ***	2,4 (263) ***	2,4 (218) *	2,5 (65)	2,4 (19)	2,3 (39)		
	p									
41-50 (c)	E	2,5 (153)	2,5 (206)	2,4 (135)	2,3 (35)	2,5 (15)	2,5 (34)	2,4 (23)	1.2.3#4.7 *	*
	B	2,4 (158)	2,4 (393) ***	2,4 (259) **	2,4 (103)	2,5 (29)	2,5 (65)	2,4 (51)		
	p									
51-60 (d)	E	2,5 (153)	2,5 (275)	2,5 (183)	2,5 (132)	2,4 (45)	2,4 (17)	2,4 (28)	*	*
	B	2,4 (140)	2,4 (337) ***	2,4 (290)	2,4 (298)	2,4 (74)	2,5 (18)	2,5 (36)		
	p									
61-70 (e)	E	2,4 (94)	2,4 (191)	2,4 (168)	2,5 (116)	2,4 (44)	2,5 (6)	2,5 (18)	1.2.3.5#4 **	*
	B	2,4 (71)	2,4 (209)	2,4 (173)	2,5 (141)	2,4 (53)	2,4 (19)	2,3 (12)		
	p									
70 < (f)	E	2,4 (49)	2,4 (142)	2,4 (110)	2,4 (94)	2,4 (30)	2,5 (7)	2,5 (18)	*	*
	B	2,3 (30)	2,4 (114)	2,4 (105)	2,4 (74)	2,5 (31)	2,4 (7)	2,5 (9)		
	p									
Yaş grupları arasında karşılaştırmalar	Erkek	a.b.c.d#f *								
	Bayan	b#d.e, e#f *								

**Tablo 22:** Serum magnezyumuna (mg/dL) ait indirekt yöntemle elde edilen referans aralıkları.

Magnezyum	Erkek		Bayan		
	Yaş	Referans aralık	% 90 G.A.	Referans aralık	% 90 G.A.
18 <		2,0 - 2,9	2,0-2,0 / 2,9-3,0	2,0 - 2,9	1,9-2,0 / 2,9-2,9



#### 4.8. Serum Total Kalsiyumu

Serum total kalsiyum verisi 16725'i erkek, 20018'i bayan olmak üzere toplam 36743 kişiden oluşmaktadır. Serum kalsiyum düzeyine (mg/dL) ait veriler Tablo 23'de gösterilmektedir.

**Tablo 23:** Serum total kalsiyum düzeyi (mg/dL) belirlenen kişi sayısı ve ortanca değerleriyle birlikte cinsiyet, numune kabul saatleri ve yaş grupları arasında karşılaştırmalar ve ilgili p değerleri.

Total Kalsiyum (mg/dL)		Saatler							Saatler arası karşılaştırmalar	
Yaş grupları		08:00-09:00 (1)	09:00-10:00 (2)	10:00-11:00 (3)	11:00-12:00 (4)	12:00-13:00 (5)	13:00-14:00 (6)	14:00-15:00 (7)	Erkek	Bayan
18-30 (a)	E	9,6 (175)	9,6 (598)	9,6 (631)	9,6 (528)	9,7 (174)	9,6 (37)	9,7 (79)	✕	1#2.3.4.5.7 2.3#5 **
	B	9,4 (291)	9,4 (1051)	9,4 (116)	9,5 (908)	9,5 (203)	9,4 (80)	9,5 (119)		
	p	***	***	***	***	***	*	*		
31-40 (b)	E	9,5 (259)	9,5 (768)	9,5 (725)	9,5 (516)	9,6 (141)	9,5 (37)	9,5 (56)	✕	✕
	B	9,3 (315)	9,3 (984)	9,3 (959)	9,4 (728)	9,3 (258)	9,3 (54)	9,3 (109)		
	p	***	***	***	***	***	**	**		
41-50 (c)	E	9,5 (382)	9,5 (n:972)	9,5 (814)	9,5 (561)	9,5 (170)	9,5 (64)	9,4 (78)	✕	1.2#3.5 2#4 **
	B	9,3 (425)	9,3 (1507)	9,4 (1350)	9,4 (975)	9,4 (326)	9,4 (69)	9,4 (131)		
	p	***	***	***	***	***				
51-60 (d)	E	9,4 (419)	9,4 (1332)	9,4 (1141)	9,5 (655)	9,5 (206)	9,3 (51)	9,4 (79)	1.2.3#4 1#5 *	✕
	B	9,4 (342)	9,5 (1397)	9,5 (1104)	9,5 (758)	9,5 (245)	9,4 (40)	9,4 (80)		
	p			**						
61-70 (e)	E	9,4 (309)	9,4 (1127)	9,4 (832)	9,4 (538)	9,4 (217)	9,4 (32)	9,3 (59)	✕	1#2.3.6.7 4#6 *
	B	9,4 (228)	9,4 (946)	9,4 (777)	9,4 (484)	9,4 (178)	9,6 (51)	9,5 (57)		
	p		*	**	***			*		
70 < (f)	E	9,3 (147)	9,3 (671)	9,3 (530)	9,3 (370)	9,3 (155)	9,2 (40)	9,5 (26)	✕	✕
	B	9,3 (92)	9,4 (434)	9,4 (420)	9,4 (290)	9,4 (102)	9,2 (18)	9,3 (49)		
	p		**	**	***					
Yaş grupları arasında karşılaştırmalar	Erkek	a#b.c.d.e.f b.c#d.e.f ***	a#b.c.d.e.f b.c#d.e.f ***	a#b.c.d.e.f b.c#d.e.f d.e#f ***	a#b.c.d.e.f b.c.d#e.f e#f ***	a#b.c.d.e.f c.d#e.f ***	a#c.d.f b#f *	a#b.c.d.e.f b#e ***		
	Bayan	b#a.d.e d#c.e ***	b.c#a.d.e.f d#f ***	a#b.c.d.f b#c.d.e.f c#d.e ***	b.c#a.d.e.f c.d#e.f a#e ***	a#b.c.e b.c#d ***	b#a.c.d.e e#f **	b.c#a.e **		

Tablo 23'e göre serum total kalsiyum düzeyleri için yaş alt gruplarının çoğunda erkek ve bayanlar arasında istatistiki olarak anlamlı farklılık bulundu (\*p<0,05, \*\*p< 0,01, \*\*\*p< 0,001). Yaş grupları açısından her iki cinste de anlamlı farklılık belirlendi (\*p<0,05, \*\*p< 0,01, \*\*\*p< 0,001). Aynı tabloya göre erkek

ve bayanların bazı yaş alt gruplarında numune kabul saatleri arasında anlamlı farklılıklar gözlemlendi (\* $p < 0,05$ , \*\* $p < 0,01$ ). Parametrik olmayan yöntemle elde edilen referans aralık limitleri, % 90 güven aralıkları ile beraber Tablo 24'te gösterilmektedir.

**Tablo 24:** Serum total kalsiyumuna (mg/dL) ait indirekt yöntemle elde edilen referans aralıkları.

Total kalsiyum	Erkek		Bayan	
	Referans aralık	% 90 G.A.	Referans aralık	% 90 G.A.
18 - 30	8,8 - 10,1	8,8-8,9 / 10,1-10,1	8,7 - 10,1	8,7-8,7 10,1-10,1
31 - 40	8,8 - 10,1	8,7-8,8 / 10,1-10,1	8,7 - 10,0	8,6-8,7 10,0-10,1
41 - 50	8,7 - 10,1	8,7-8,8 / 10,1-10,1	8,7 - 10,1	8,7-8,7 10,0-10,1
51 - 60	8,7 - 10,1	8,7-8,8 / 10,1-10,1	8,7 - 10,1	8,7-8,7 10,1-10,1
61 - 70	8,7 - 10,1	8,7-8,7 / 10,0-10,1	8,7 - 10,1	8,7-8,7 10,1-10,1
70 <	8,6 - 10,0	8,6-8,6 / 10,0-10,1	8,7 - 10,0	8,6-8,7 10,0-10,1

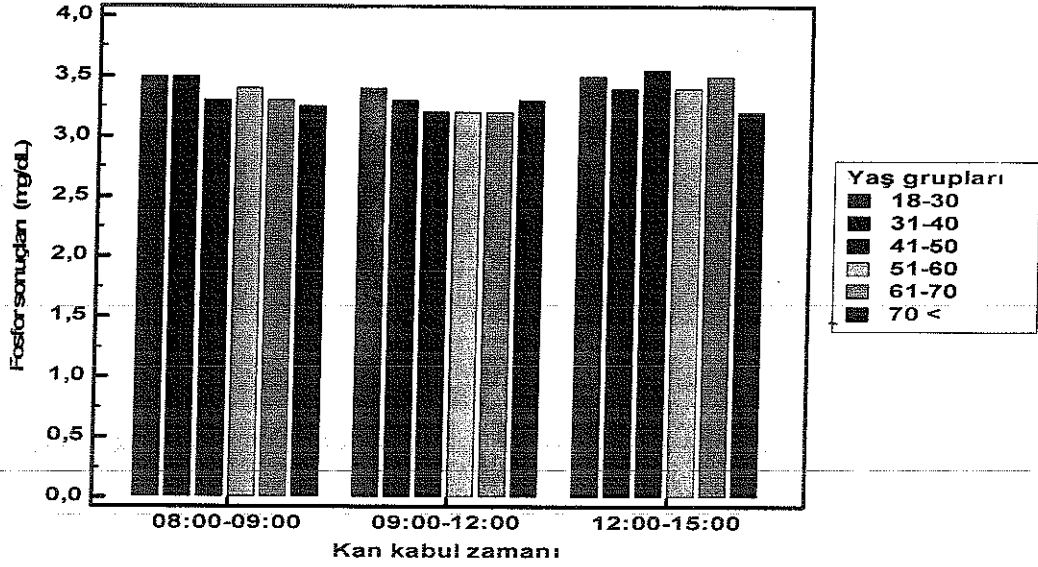
#### 4.9. Serum İnorganik Fosforu

Serum inorganik fosforu verisi 4360'ı erkek, 6186'sı bayan olmak üzere toplam 10546 kişiden oluşmaktadır. Serum inorganik fosfor düzeyine (mg/dL) ait veriler Tablo 25'de gösterilmektedir.

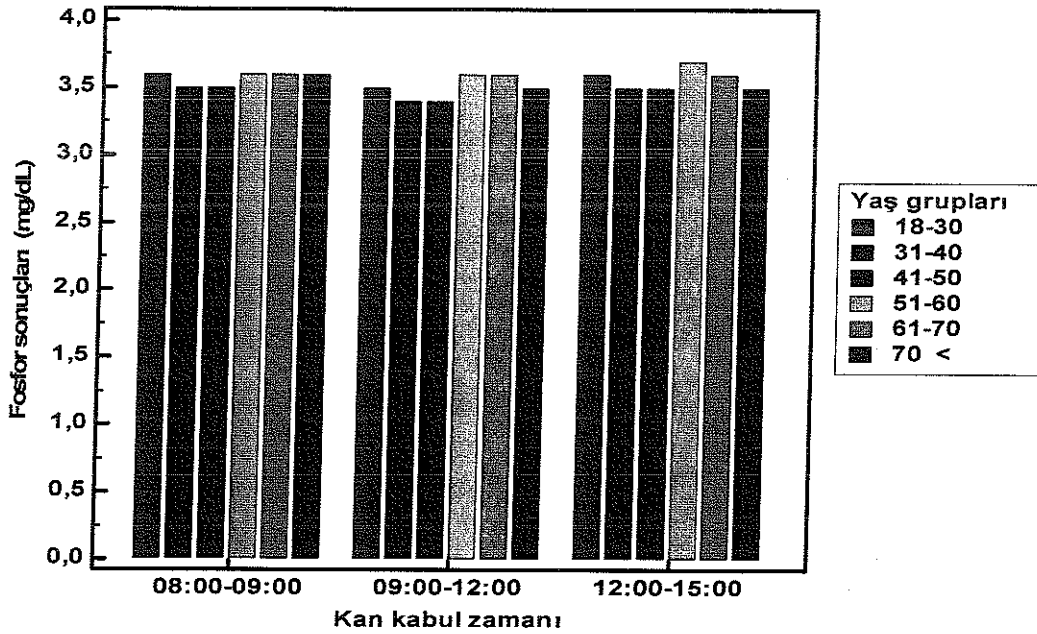
Tablo 25'e göre serum inorganik fosfor düzeyleri için erkek ve bayanlar arasında istatistiki olarak genellikle anlamlı farklılık bulundu (\* $p < 0,05$ , \*\* $p < 0,01$ , \*\*\* $p < 0,001$ ). Yaş grupları açısından her iki cinsten de anlamlı farklılıklar belirlendi (\* $p < 0,05$ , \*\* $p < 0,01$ , \*\*\* $p < 0,001$ ). Bununla birlikte erkeklerin yaş alt gruplarının çoğunda numune kabul saatleri arasında anlamlı farklılık gözlemlendi (\* $p < 0,05$ , \*\* $p < 0,01$ , \*\*\* $p < 0,001$ ). Numune alma zamanına göre serum inorganik fosfor düzeylerindeki gün içindeki artış erkeklerde 31-40 ve 41-50 yaş alt grubunda daha anlamlı (\*\*\* $p < 0,001$ ) görüldüğü için alt gruplandırma saat 08:00-09:00, 09:00-12:00, 12:00-15:00 şeklinde düzenlendi ve Şekil 8 (erkeklerde) ve Şekil 9'da (bayanlarda) gösterildi.

**Tablo 25:** Serum inorganik fosforu düzeyi (mg/dL) belirlenen kişi sayısı ve ortalama değerleriyle birlikte cinsiyet, numune kabul saatleri ve yaş grupları arasında karşılaştırmalar ve ilgili p değerleri.

İnorganik fosfor (mg/dL)		Saatler							Saatler arası karşılaştırmalar	
Yaş grupları		08:00-09:00 (1)	09:00-10:00 (2)	10:00-11:00 (3)	11:00-12:00 (4)	12:00-13:00 (5)	13:00-14:00 (6)	14:00-15:00 (7)	Erkek	Bayan
18-30 (a)	E	3,5 (88)	3,4 (179)	3,4 (183)	3,3 (148)	3,7 (52)	3,5 (18)	3,5 (33)	1#4 2.3.4#5 **	X
	B	3,6 (135)	3,5 (325)	3,5 (130)	3,5 (264)	3,6 (86)	3,8 (33)	3,6 (39)		
	p		*	**	***					
31-40 (b)	E	3,5 (142)	3,3 (232)	3,4 (166)	3,2 (120)	3,4 (37)	3,4 (19)	3,3 (22)	1#2.4 ***	X
	B	3,5 (140)	3,4 (330)	3,4 (293)	3,4 (239)	3,5 (74)	3,4 (19)	3,5 (32)		
	p		***		***					
41-50 (c)	E	3,3 (177)	3,2 (258)	3,2 (169)	3,3 (130)	3,6 (32)	3,5 (21)	3,4 (25)	2.3#5 ***	X
	B	3,5 (229)	3,4 (456)	3,3 (338)	3,5 (264)	3,6 (103)	3,4 (24)	3,4 (41)		
	p	**	***	*	*					
51-60 (d)	E	3,4 (168)	3,2 (207)	3,2 (141)	3,2 (258)	3,2 (38)	3,5 (14)	3,5 (23)	X	X
	B	3,6 (172)	3,6 (279)	3,6 (187)	3,4 (456)	3,7 (64)	3,5 (15)	3,8 (23)		
	p	***	***	***	***	***				
61-70 (e)	E	3,3 (107)	3,2 (231)	3,2 (162)	3,2 (105)	3,5 (45)	3,7 (5)	3,5 (18)	X	X
	B	3,6 (97)	3,5 (249)	3,6 (201)	3,6 (124)	3,7 (46)	3,7 (17)	3,5 (14)		
	p	***	***	***	***					
70 < (f)	E	3,2 (68)	3,2 (190)	3,3 (132)	3,4 (85)	3,2 (31)	3,2 (10)	3,2 (16)	X	X
	B	3,6 (53)	3,4 (152)	3,5 (127)	3,5 (116)	3,5 (37)	3,5 (12)	3,9 (10)		
	p	*	***	***	*	*		*		
Yaş grupları arasında karşılaştırmalar	Erkek	a#c.d.e.f b#e	a#b.c.d.e.f	a#d		a#d.f		X		
	Bayan	**	b.c#a.d.e	b.c#a.d.e.f	b.c#d		X	X		



Şekil 8: Erkeklerde serum inorganik fosfor düzeylerinin farklı yaş alt gruplarında numune kabul zamanları arasındaki farklılık.



Şekil 9: Bayanlarda serum inorganik fosfor düzeylerinin farklı yaş alt gruplarında numune kabul zamanları arasındaki farklılık.

Parametrik olmayan yöntemle elde edilen referans aralık limitleri, % 90 güven aralıkları ile beraber Tablo 26'da gösterilmektedir. Ancak bazı alt gruplarda veri sayısı yeterli bulunamadığından % 95 güven aralığı hesaplanamamıştır.

**Tablo 26:** Serum fosforuna (mg/dL) ait indirekt yöntemle elde edilen referans aralıklar.

Fosfor	Erkek						Bayan					
	08:00-09:00		09:00-12:00		12:00-15:00		08:00-09:00		09:00-12:00		12:00-15:00	
	Referans aralık	% 90 G.A.	Referans aralık	% 90 G.A.	Referans aralık	% 90 G.A.	Referans aralık	% 90 G.A.	Referans aralık	% 90 G.A.	Referans aralık	% 90 G.A.
18 - 30	2,3 4,7	-	2,2 4,5	2,1-2,2 4,4-4,6	2,5 4,7	-	2,4 4,6	-	2,4 4,5	2,3-2,4 4,5-4,6	2,5 4,5	2,2-2,7 4,4-4,9
31 - 50	2,5 4,4	2,2-2,5 4,3-4,6	2,2 4,4	2,1-2,2 4,3-4,5	2,3 4,5	2,1-2,6 4,3-4,7	2,5 4,5	2,2-2,6 4,4-4,8	2,3 4,5	2,3-2,4 4,4-4,6	2,4 4,6	2,2-2,5 4,5-4,8
51 <	2,2 4,5	2,2-2,4 4,4-4,7	2,2 4,3	2,1-2,2 4,3-4,5	2,4 4,4	2,2-2,5 4,6-4,6	2,6 4,7	2,3-2,6 4,6-4,9	2,4 4,6	2,4-2,5 4,5-4,7	2,6 4,6	2,5-2,9 4,4-4,9

#### 4.10. Serum Parathormonu

Serum parathormonu verisi 264'ü erkek, 647'si bayan olmak üzere toplam 997 kişiden oluşmaktadır. Serum parathormon düzeyine (pg/mL) ait veriler Tablo 27'de gösterilmektedir.

Tablo 27'ye göre serum parathormon düzeyleri için erkek ve bayanlar arasında istatistiki olarak genellikle anlamlı farklılık gözlenmedi ( $p>0,05$ ). Yaş grupları açısından anlamlı farklılık belirlendi ( $***p< 0,001$ ). Aynı tabloya göre erkek ve bayanlarda numune kabul saatleri arasında anlamlı farklılık gözlenmedi ( $p>0,05$ ). Parametrik olmayan yöntemle elde edilen referans aralık limitleri, % 90 güven aralıkları ile beraber Tablo 28'de gösterilmektedir.

**Tablo 27:** Serum parathormonu düzeyi (pg/mL) belirlenen kişi sayısı ve aritmetik ortalama değerleriyle birlikte cinsiyet, numune kabul saatleri ve yaş grupları arasında karşılaştırmalar ve ilgili p değerleri.

Parathormon (pg/mL)		Saatler							Saatler arası karşılaştırmalar
Yaş grupları		08:00-09:00 (1)	09:00-10:00 (2)	10:00-11:00 (3)	11:00-12:00 (4)	12:00-13:00 (5)	13:00-14:00 (6)	14:00-15:00 (7)	Erkek ve Bayan
18-30 (a)	E	48 (8)	38 (16)	42 (11)	83 (9)				*
	B	51 (7)	56 (50)	53 (51)	51 (23)	73 (10)	89 (8)	80 (5)	
	p		*						
31-40 (b)	E	36 (9)	48 (19)	54 (17)	52 (10)				
	B	63 (24)	66 (32)	58 (38)	57 (14)	59 (9)	--	--	
	p	*	*						
41-50 (c)	E	53 (8)	45 (10)	55 (12)	73 (11)				
	B	59 (23)	56 (44)	72 (31)	56 (22)	48 (11)	--	--	
	p			*					
51-60 (d)	E	62 (10)	56 (28)	67 (9)	48 (9)				
	B	76 (16)	58 (46)	61 (20)	75 (20)	60 (10)	--	--	
	p				*				
61-70 (e)	E	66 (10)	73 (18)	66 (10)	63 (7)				
	B	75 (9)	65 (34)	63 (26)	62 (12)	81 (6)	--	--	
	p								
70 < (f)	E	69 (7)	71 (12)	77 (8)	53 (7)				
	B	66 (9)	70 (15)	90 (10)		--	--	--	
	p								
Yaş grupları arasında karşılaştırmalar	Erkek ve Bayan	a#b.c.d.e.f							
		***							

**Tablo 28:** Serum parathormonuna (pg/mL) ait indirekt yöntemle elde edilen referans aralıkları.

Parathormon	Erişkin	
Yaş	Referans aralığı	% 90 G.A.
18 - 40	16 - 127	13-19 / 112-137
41 <	19 - 129	16-23 / 125-137

#### 4.11. Serum Vitamin B12

Serum vitamin B12 verisi 1803'i erkek, 3725'i bayan olmak üzere toplam 5528 kişiden oluşmaktadır. Serum vitamin B12 düzeyine (pg/ml) ait veriler Tablo 29'da gösterilmektedir.

**Tablo 29:** Serum vitamin B12 düzeyi (pg/mL) belirlenen kişi sayısı ve ortalama değerleriyle birlikte cinsiyet, numune kabul saatleri ve yaş grupları arasında karşılaştırmalar ve ilgili p değerleri.

Vitamin B12 (pg/mL)		Saatler							Saatler arası karşılaştırmalar
Yaş grupları		08:00-09:00 (1)	09:00-10:00 (2)	10:00-11:00 (3)	11:00-12:00 (4)	12:00-13:00 (5)	13:00-14:00 (6)	14:00-15:00 (7)	Erkek ve Bayan
18-30 (a)	E	260 (51)	240 (325)	228 (112)	240 (88)	256 (35)	219 (14)	216 (31)	*
	B	259 (121)	252 (111)	255 (320)	268 (251)	258 (92)	240 (38)	284 (48)	
	p			*					
31-40 (b)	E	243 (43)	255 (81)	267 (74)	267 (54)	234 (14)	253 (6)	263 (14)	
	B	260 (96)	261 (253)	266 (194)	265 (138)	259 (45)	248 (14)	245 (32)	
	p								
41-50 (c)	E	278 (48)	288 (87)	283 (66)	257 (48)	308 (22)	290 (7)	278 (13)	
	B	285 (76)	260 (240)	258 (203)	249 (116)	270 (67)	239 (15)	265 (26)	
	p								
51-60 (d)	E	303 (37)	258 (117)	287 (77)	283 (54)	238 (19)	285 (9)	209 (15)	
	B	214 (68)	282 (155)	282 (149)	271 (76)	289 (34)	252 (11)	279 (18)	
	p							*	
61-70 (e)	E	260 (37)	278 (73)	315 (72)	279 (48)	242 (22)	222 (3)	211 (13)	
	B	305 (35)	299 (95)	338 (76)	294 (69)	266 (25)	349 (8)	317 (13)	
	p								
70 < (f)	E	411 (15)	296 (53)	242 (44)	268 (30)	321 (23)	237 (6)	315 (14)	
	B	287 (20)	307 (61)	354 (34)	312 (42)	413 (17)	310 (7)		
	p								
Yaş grupları arasında karşılaştırmalar		a#c.d.e.f b.c#d.e.f							
Erkek ve Bayan		***							

Tablo 29'a göre serum vitamin B12 düzeyleri için erkek ve bayanlar arasında istatistiki olarak genellikle anlamlı farklılık yoktu ( $p>0,05$ ). Yaşa göre anlamlı farklılık gözlemlendi ( $***p<0,001$ ). Erkek ve bayan alt gruplarında numune kabul

saatleri arasında anlamlı farklılık gözlenmedi ( $p>0,05$ ). Parametrik olmayan yöntemle elde edilen referans aralık limitleri, % 90 güven aralıkları ile beraber Tablo 30'da gösterilmektedir.

**Tablo 30:** Serum vitamin B<sub>12</sub>'ye (pg/ml) ait indirekt yöntemle elde edilen referans aralıklar.

Vitamin B <sub>12</sub>	Erişkin	
	Referans aralık	% 90 G.A.
Yaş		
18 - 30	15 - 694	154-157 / 659-762
31 - 50	159 - 788	157-161 / 754-846
51 <	159 - 885	157-161 / 867-911

#### 4.12. Serum Folat

Serum folat verisi 2704'ü erkek, 5071'i bayan olmak üzere toplam 7775 kişiden oluşmaktadır. Serum folat düzeyine (ng/mL) ait veriler Tablo 31'de gösterilmektedir.

Tablo 31'e göre serum folat düzeyleri için bazı yaş alt gruplarında erkek ve bayanlar arasında istatistiki olarak anlamlı farklılık bulundu ( $*p<0,05$ ,  $**p<0,01$ ,  $***p<0,001$ ). Her iki cinste yaşa göre anlamlı farklılık gözlemlendi ( $***p<0,001$ ). Numune kabul saatleri arasında anlamlı farklılık sadece bayan alt grubunun 18-30 yaş alt grubunda gözlemlendi ( $*p<0,05$ ). Parametrik olmayan yöntemle elde edilen referans aralık limitleri, % 90 güven aralıkları ile beraber Tablo 32'de gösterilmektedir.



**Tablo 31:** Serum folat düzeyi (ng/mL) belirlenen kişi sayısı ve ortanca değerleriyle birlikte cinsiyet, numune kabul saatleri ve yaş grupları arasında karşılaştırmalar ve ilgili p değerleri.

Folat (ng/mL)		Saatler							Saatler arası karşılaştırmalar	
Yaş grupları		08:00-09:00 (1)	09:00-10:00 (2)	10:00-11:00 (3)	11:00-12:00 (4)	12:00-13:00 (5)	13:00-14:00 (6)	14:00-15:00 (7)	Erkek	Bayan
18-30 (a)	E	5,4 (68)	5,2 (184)	5,6 (153)	5,5 (125)	4,5 (38)	6,2 (26)	5,8 (37)	X	1.2.3.4.5.6#7 1#3 *
	B	5,8 (161)	6,1 (442)	6,3 (443)	6,2 (336)	6,3 (117)	6,1 (68)	7,3 (56)		
	p		***	***	***	***		**		
31-40 (b)	E	6,3 (68)	5,6 (125)	5,8 (129)	6,1 (184)	6,3 (16)	6,4 (11)	4,7 (15)	X	X
	B	6,4 (115)	6,7 (340)	6,4 (278)	7,0 (197)	6,5 (61)	6,9 (25)	5,9 (42)		
	p		**	**						
41-50 (c)	E	6,1 (73)	6,5 (148)	6,1 (97)	6,5 (84)	6,6 (29)	5,3 (14)	6,6 (24)	X	X
	B	6,0 (121)	7,0 (300)	6,9 (270)	7,2 (161)	7,2 (87)	7,6 (18)	8,7 (36)		
	p			***				*		
51-60 (d)	E	6,1 (66)	6,4 (17)	6,8 (112)	7,1 (86)	5,8 (26)	6,8 (14)	5,2 (12)	X	X
	B	7,0 (81)	7,5 (224)	7,7 (190)	7,2 (118)	7,1 (36)	6,7 (17)	8,8 (26)		
	p	*	**	*				*		
61-70 (e)	E	6,2 (54)	6,1 (122)	6,6 (84)	6,4 (65)	7,1 (24)	5,9 (9)	5,0 (13)	X	X
	B	7,8 (40)	7,0 (137)	7,4 (135)	7,0 (90)	7,5 (36)	6,9 (7)	9,2 (12)		
	p	**	*	*						
70 < (f)	E	6,3 (20)	5,9 (87)	5,1 (74)	5,6 (46)	5,8 (23)	4,9 (7)	6,3 (17)	X	X
	B	7,0 (33)	6,5 (85)	7,2 (66)	6,9 (66)	7,3 (26)	4,9 (6)	4,2 (4)		
	p		*	**	*	**				
Yaş grupları arasında karşılaştırmalar	Erkek	a#b.c.d.e; b#d.f, c.d.e#f ***								
	Bayan	a#b.c.d.e.f; b#c.d.e; c#d; d#f ***								

**Tablo 32:** Serum folatına (ng/mL) ait indirekt yöntemle elde edilen referans aralıkları.

Folat	Erkek		Bayan		
	Yaş	Referans aralık	% 90 G.A.	Referans aralık	% 90 G.A.
18 - 30		2,5 - 12,2	2,4-2,6 / 10,9-14,0	3,0 - 14,0	2,8-3,1 / 13,3-16,1
31 - 40		2,8 - 15,0	2,5-2,9 / 13,7-19,1	3,2 - 15,3	2,8-3,3 / 14,5-16,7
41 - 50		2,9 - 14,5	2,6-3,2 / 13,4-15,9	3,1 - 16,8	2,8-3,2 / 15,3-17,7
51 - 60		2,8 - 15,8	2,6-3,1 / 14,7-18,0	3,2 - 18,4	2,9-3,4 / 16,7-19,3
61 - 70		2,6 - 16,9	2,4-2,8 / 15,3-20,1	3,3 - 17,7	2,8-3,5 / 16,0-19,6
70 <		2,6 - 13,4	2,4-2,8 / 12,2-19,1	3,0 - 17,2	2,6-3,4 / 14,3-20,2

### 4.13. Serum Prolaktini

Serum prolaktini verisi 775'i erkek, 1665'i bayan olmak üzere toplam 2440 kişiden oluşmaktadır. Serum prolaktin düzeyine (ng/mL) ait veriler Tablo 33'te gösterilmektedir.

**Tablo 33:** Serum prolaktin düzeyi (ng/mL) belirlenen kişi sayısı ve ortalama değerleriyle birlikte cinsiyet, numune kabul saatleri ve yaş grupları arasında karşılaştırmalar ve ilgili p değerleri.

Prolaktin (ng/mL)		Saatler							Saatler arası karşılaştırmalar	
Yaş grupları		08:00-09:00 (1)	09:00-10:00 (2)	10:00-11:00 (3)	11:00-12:00 (4)	12:00-13:00 (5)	13:00-14:00 (6)	14:00-15:00 (7)	Erkek	Bayan
18-30 (a)	E	9,8 (28)	9,5 (71)	7,6 (57)	7,3 (57)	7,2 (21)	8,4 (5)	11 (10)	1#4	1#2.3.4 .5.6 2.3.4#5 .5#7 ***
	B	15 (50)	13 (119)	11 (123)	12 (134)	8,9 (51)	9,6 (19)	5,2 (21)		
	p	***	***	***	***					
31-40 (b)	E	7,8 (33)	7,5 (44)	7,4 (53)	6,1 (39)	6,3 (18)	11 (10)	9,2 (8)	X	1#2.3.4 .5 2#3.4.5 .4#6 ***
	B	14 (50)	11 (107)	9,7 (106)	7,9 (91)	8,6 (37)		9,4 (12)		
	p	***	***	**	**					
41-50 (c)	E	7,1 (21)	5,5 (39)	7,1 (43)	6,6 (21)	5,7 (7)	6,0 (4)	5,3 (4)	X	1#3.4.5 2#4.4# 6.7 **
	B	11 (30)	9,5 (71)	7,9 (79)	6,2 (79)	7,6 (36)	11 (12)	11 (12)		
	p	**	**							
51-60 (d)	E	8,0 (15)	6,2 (39)	5,3 (24)	5,7 (18)	5,3 (6)			X	X
	B	5,8 (17)	6,9 (62)	5,4 (71)	5,8 (54)	4,8 (31)	5,5 (12)	6,9 (5)		
	p									
61-70 (e)	E	5,3 (8)	5,1 (22)	6,9 (20)	5,2 (15)				X	X
	B	5,5 (11)	5,7 (23)	5,6 (31)	5,9 (28)	5,3 (19)	---	---		
	p									
70 < (f)	E			7,4 (7)	9,0 (4)				X	1#2.3.4 .5 *
	B	8,7 (5)	6,3 (11)	5,1 (8)	6,2 (7)	4,4 (8)	8,5 (4)	---		
	p									
Yaş grupları arasında karşılaştırmalar	Erkek	X	a#b.c.d.e b#c.e c.d#e ***	X	X	X	X	X		
	Bayan	a.b#d.e ***	a.b.c#d.e.f d#e.f ***	a.b.c#d.e.f d#e.f,d#e,d#f e#f ***	a.b.c.d.e#f b.c.d#e ***	a.b#d.e. d#f ***	a.b#d.e **	X		

Tablo 33'e göre serum prolaktin düzeyleri için erkek ve bayanlar arasında 18-30, 31-40, 41-50 yaş alt gruplarında istatistiki olarak anlamlı farklılık bulundu (\*\*p<

arasında anlamlı farklılık gözlemlendi (\* $p < 0,05$ , \*\* $p < 0,01$ , \*\*\* $p < 0,001$ ). Numune alma zamanına göre prolaktin düzeylerindeki azalma bayanlarda 18-30 ile 31-40 yaş alt gruplarında daha anlamlı (\*\* $p < 0,001$ ) görüldüğü için alt gruplandırma saat 08:00-09:00, 09:00-10:00 ile 10:00-15:00 şeklinde düzenlendi.

Parametrik olmayan yöntemle elde edilen referans aralık limitleri, % 90 güven aralıkları ile beraber Tablo 34'te gösterilmektedir. Ancak bazı alt gruplarda veri sayısı yeterli bulunamadığından % 90 güven aralığı hesaplanamamıştır.

**Tablo 34:** Serum prolaktinine (ng/mL) ait indirekt yöntemle elde edilen referans aralıklar.

Prolaktin	Erkek						Bayan					
	08:00-09:00		09:00-10:00		10:00-15:00		08:00-09:00		09:00-10:00		10:00-15:00	
	Referans aralık	% 90 G.A.	Referans aralık	% 90 G.A.	Referans aralık	% 90 G.A.	Referans aralık	% 90 G.A.	Referans aralık	% 90 G.A.	Referans aralık	% 90 G.A.
18 - 50	3,7 20,7	-	3,0 19,8	2,6-3,6 17,0-24,0	3,1 23,5	2,9-3,5 19,3-25,7	4,2 34,3	-	3,8 29,3	3,2-4,4 27,6-37,8	3,7 32,9	3,3-3,9 29,7-36,3
51 <	2,9 20,7	-	2,4 17,7	-	2,3 15,6	-	1,9 23,6	-	2,8 20,7	-	2,6 21,2	2,3-2,8 13,9-34,7

#### 4.14. Serum Total kortizolu

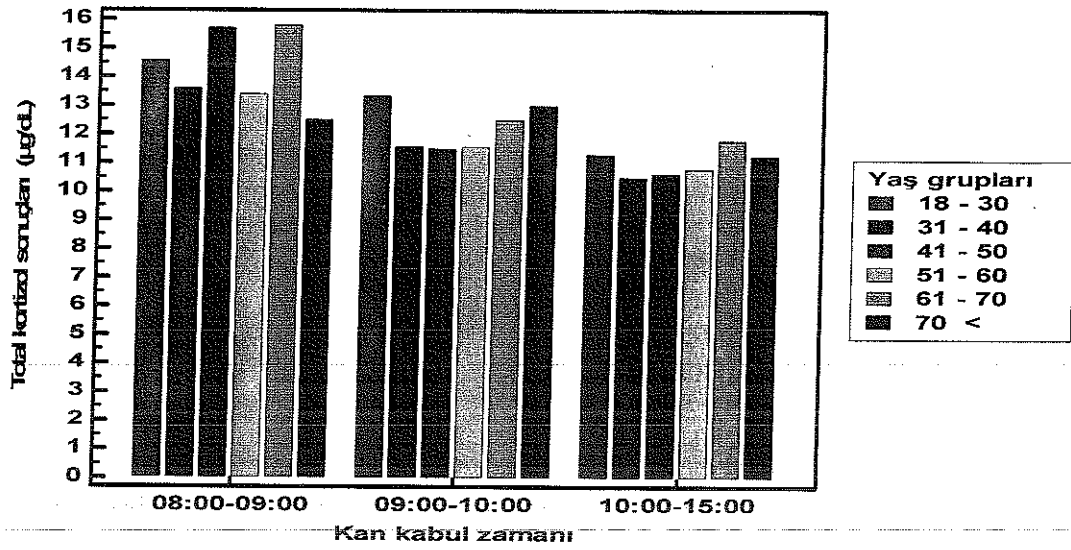
Serum total kortizol verisi 804'ü erkek, 2608'i bayan olmak üzere toplam 3412 kişiden oluşmaktadır. Serum total kortizol düzeyine ( $\mu\text{g/dL}$ ) ait veriler Tablo 35'te gösterilmektedir.

Tablo 35'e göre serum total kortizol düzeyleri için erkek ve bayanlar arasında istatistiki olarak anlamlı farklılık bazı yaş alt gruplarında bulundu (\* $p < 0,05$ , \*\* $p < 0,01$ , \*\*\* $p < 0,001$ ). Yaş alt gruplarında erkek ve bayanlarda anlamlı farklılıklar belirlendi (\* $p < 0,01$ , \*\*\* $p < 0,001$ ). Erkek ve bayan alt gruplarında numune kabul saatleri arasında anlamlı farklılık gözlemlendi (\* $p < 0,05$ , \*\* $p < 0,01$ , \*\*\* $p < 0,001$ ). Numune alma zamanına göre serum total kortizol düzeylerindeki azalma özellikle bayanlarda özellikle 18-30, 31-40, 41-50, 51-60 yaş alt grubunda daha anlamlı (\*\* $p < 0,001$ ) görüldüğü için alt gruplandırma saat 08:00-09:00, 09:00-10:00 ile

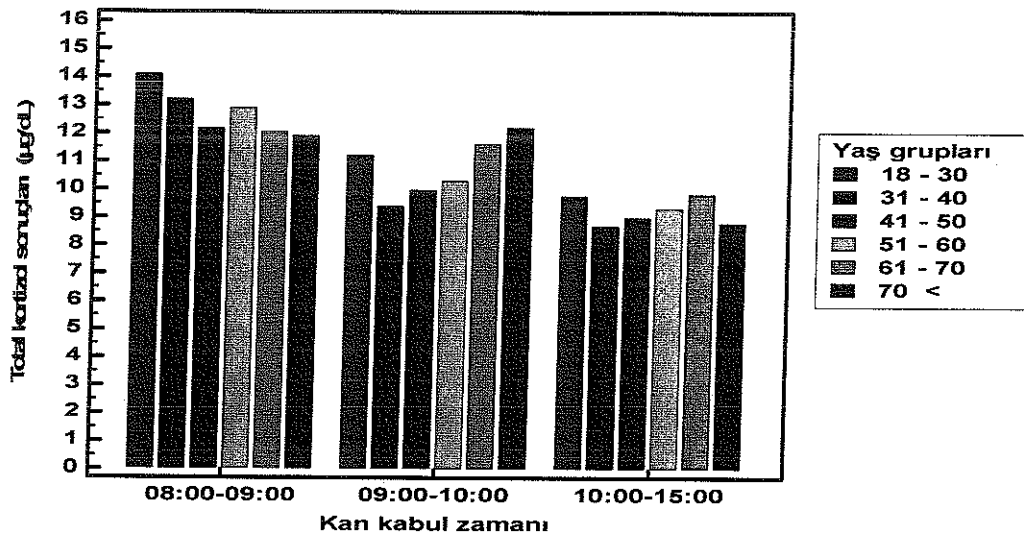
10:00-15:00 şeklinde düzenlendi ve Şekil 10 (erkeklerde) ve Şekil 11'de (bayanlarda) gösterildi.

**Tablo 35:** Serum total kortizol düzeyi ( $\mu\text{g/dL}$ ) belirlenen kişi sayısı ve ortanca değerleriyle birlikte cinsiyet, numune kabul saatleri ve yaş grupları arasında karşılaştırmalar ve ilgili p değerleri.

Total kortizol ( $\mu\text{g/dL}$ )		Saatler							Saatler arası karşılaştırmalar	
Yaş grupları		08:00-09:00 (1)	09:00-10:00 (2)	10:00-11:00 (3)	11:00-12:00 (4)	12:00-13:00 (5)	13:00-14:00 (6)	14:00-15:00 (7)	Erkek	Bayan
18-30 (a)	E	15 (38)	13 (88)	12 (80)	11 (66)	11 (16)	11 (13)	15 (10)	1,2#3,4 ***	1#2,3,4,5,6,7 2#3,4,6 ***
	B	14 (91)	11 (281) ***	10 (291) ***	10 (222)	10 (86)	10 (27)	10 (23) *		
	p									
31-40 (b)	E	13 (33)	13 (51)	10 (42)	12 (38)	10 (8)	13 (6)	13 (4)	X	1#2,3,4,5 2#3,4,4#7 ***
	B	13 (74)	10 (176) *	9 (183) **	8 (114) **	9 (33)	9 (7)	11 (16)		
	p									
41-50 (c)	E	16 (29)	12 (33)	11 (33)	9 (26)	9 (41)	9 (10)	13 (4) 8 (11)	1#2,3,4 ***	1#2,3,4,5 2#4 ***
	B	12 (64) **	10 (160)	9 (136)	8 (86)					
	p									
51-60 (d)	E	13 (11)	12 (34)	11 (34)	11 (15)	8 (26)	9 (6)	9 (9)	X	1#2,3,4,5,7 2#4 ***
	B	13 (33)	10 (105)	10 (76) *	9 (67)					
	p									
61-70 (e)	E	16 (8)	13 (13)	12 (20)	11 (7)	8 (7)	-	-	X	2#3 **
	B	12 (20) *	12 (36)	11 (28)	9 (22)					
	p									
70 < (f)	E	-	13 (7)	9 (7)	11 (8)	7 (5)	-	-	X	2#4 *
	B		12 (11)	9 (11)	7 (9)					
	p									
Yaş grupları arasında karşılaştırmalar	Erkek	X	a#b,c *	X	X	X	X	X		
	Bayan	X	b,c#4,a,e,f ***	X	X	X	X	X		



Şekil 10: Erkeklerde serum total kortizol düzeylerinin farklı yaş alt gruplarında numune kabul zamanları arasındaki anlamlı farklılık.



Şekil 11: Bayanlarda serum total kortizol düzeylerinin farklı yaş alt gruplarında numune kabul zamanları arasındaki anlamlı farklılık.

Parametrik olmayan yöntemle elde edilen referans aralık limitleri, % 90 güven aralıkları ile beraber Tablo 36'da gösterilmektedir. Ancak bazı alt gruplarda veri sayısı yeterli bulunamadığından % 90 güven aralığı hesaplanamamıştır.

**Tablo 36:** Serum total kortizoluna ( $\mu\text{g/dL}$ ) ait indirekt yöntemle elde edilen referans aralıklar.

Kortizol	Erkek						Bayan					
	08:00-09:00		09:00-10:00		10:00-15:00		08:00-09:00		09:00-10:00		10:00-15:00	
	Referans aralık	% 90 G.A.	Referans aralık	% 90 G.A.	Referans aralık	% 90 G.A.	Referans aralık	% 90 G.A.	Referans aralık	% 90 G.A.	Referans aralık	% 90 G.A.
Yaş												
18 <	7,1 22,6	-	4,9 22,0	3,2-5,8 21,4-23,3	4,4 20,7	3,9-4,9 19,5-23,6	5,1 23,5	3,5-6,0 22,5-24,2	4,7 21,5	4,3-5,0 20,7-22,9	4,3 20,0	4,0-4,4 19,4-21,1

## 5. TARTIŞMA

### 5.1. Referans Aralık ve İndirekt Örneklem Yöntemi

Klinik laboratuvarların insan sağlığının yönetimindeki rolü giderek büyümektedir (1,84). Laboratuvar test kalitesini arttırmak için özellikle analitik aşamada ilerlemeler kaydedilmiştir. Analitik varyasyonun preanalitik ve postanalitik aşamada gözlenen varyasyonlardan daha küçük olduğu bilinmektedir (85). Klinik laboratuvar analitik kalite kontrol uygulamalarında bir analitin analitik varyasyon değeri kişisel varyasyon değerinin yarısı olması istenilen bir kriterdir (28). Örneğin, serum bakırı için kişisel varyasyon % 4,9 iken analitik varyasyonun % 2,5 olması hedeftir (32). Bu yüzden total test sürecinde analitik aşamadan daha çok preanalitik ve postanalitik aşamaya odaklanmalıdır.

Postanalitik aşama total test sürecindeki son aşamadır ve hasta numunesi test sonuçlarının ilgili analizörden laboratuvar bilgi sistemine transfer edildiği evredir. Bu evrede test sonucunun doğru ve zamanında klinik laboratuvar uzmanına ve gerekirse klinisyene iletişim kurularak bildirilmesi önemlidir (20). Postanalitik aşamada klinik laboratuvarın diğer önemli görevi, kendi popülasyonuna ait referans aralıklarını doğru ve gerçek olarak klinisyene sunmaktır. Referans aralık veya referans değerler olmadan hastanın analiz sonuçlarını değerlendirmek mümkün değildir (15). Referans aralık için daha önceleri “normal değer” veya “normal aralık” ifadeleri kullanılmıştır. Bunun yerine 1980’lerde uygulamaya konulan “sağlıklı insanlardan elde edilen referans değerler”, “sağlıkla alakalı referans değerler”, “sağlığa ait referans aralık” veya “referans aralık” terimleri kullanılmaktadır (15,16).

Genellikle yaş ve cinsiyetin alt gruplandırma faktörü olarak değerlendirildiği bu dört yöntemden birisi direkt örnekleme yoluyla referans aralığın belirlenmesidir. Bu yöntem IFCC tarafından tavsiye edilen tek yöntemdir (5). Direkt yöntem için gerekli olan en az 120 sağlıklı insanın çalışmaya dahil edilmesi ve eğer alt gruplandırma olacaksa her bir alt grup için yine en az 120 referans şahıs sayısına ulaşılması gerekir (47). Referans şahıs sayısı tek başına düşünüldüğünde bilhassa pediatrik ve geriatric hastalarda ve hamilelerde bu yöntem pratik değildir. BOS, eklem içi sıvı, aspirasyon sıvıları gibi az istenen numunelerde analiz edilen analitler

için direkt yöntemle referans aralık tayini çok daha zor olabilir. Direkt yöntemin aynı anda masraflı olması da her bir laboratuvarın tek başına üstlenebileceği bir çalışma olamayacağını ispatlamaktadır. Ayrıca zaman kaybettirici ve emek gerektiren bir yöntem olduğu unutulmamalıdır (41). Bu nedenle referans aralıkların tesbitinde direkt yöntemden başka yöntemlere gerek duyulmaktadır.

Diğer bir yöntem ise indirekt örnekleme ile laboratuvar bilgi sistemindeki hasta test sonuçlarının olduğu veri kaynağına ulaşılarak oluşturulur. İndirekt yöntemin direkt yöntemin yerine geçen bir yöntem olmadığı bilinmektedir (20). Direkt yöntemin tamamlayıcısıdır. Belirlenen referans aralıkların istatistikî metod ve kriterlere bağlı olarak değişmesi indirekt yöntem için yapılan diğer eleştiri konusudur (46). İndirekt yöntemin avantajı, gelişmiş bir laboratuvar bilgi sistemi olan her laboratuvarın kısa sürede referans aralığı tesbit etmesidir. Bu çalışma ek maliyet getirmez. Özellikle direkt örnekleme yönteminin uygulanamadığı hasta ve numune gruplarında indirekt referans kullanımı çok avantajlıdır (41). Turgut Özal Tıp Merkezinde Laboratuvar Bilgi Sistemi içindeki verileri kullanarak bazı parametreler için indirekt referans aralığı belirlenmesi hastane veri sistemine önemli katkı sağlamıştır.

Laboratuvarımızda neredeyse bütün analitler için kit prospektüsü ve referans kitaplarda bulunan referans aralıklar kullanılmaktadır. Bu şekilde sunulan özellikle kit prospektüsü referans aralıklarının klinisyenlerce temkinli davranıldığı yakinen bilinmektedir. Bu çalışmayla klinisyenler tarafından talep edilen lokal referans aralıkları sınırlı sayıda parametre için belirlenmiştir.

## **5.2. Döngüsel Varyasyon ve İndirekt Referans Aralık**

Öncelikle diurnal varyasyonu olan her analit için numune alma zamanına göre referans aralığı gerekip gerekmediği sorusu bizim çalışmamızın başlangıç noktasıdır. İkinci olarak hastaneye veya polikliniğe gelen hastaların farklı zamanlarda kan alınması gerekebileceğinden standart kan alma zamanlarının dışına çıkılmasını gerektirecektir. Bu yüzden özellikle döngüsel varyasyonu olan analitlerin numune alma zamanı temelinde referans aralıklarının oluşturulmasına ihtiyaç vardır



(17,25,86). Çalışmamızda rutin kan almada her saat aralığı anlamlı bulunmasa bile belli zaman aralıklarının anlamlı bulunması çalışmamızın önemini vurgulamaktadır.

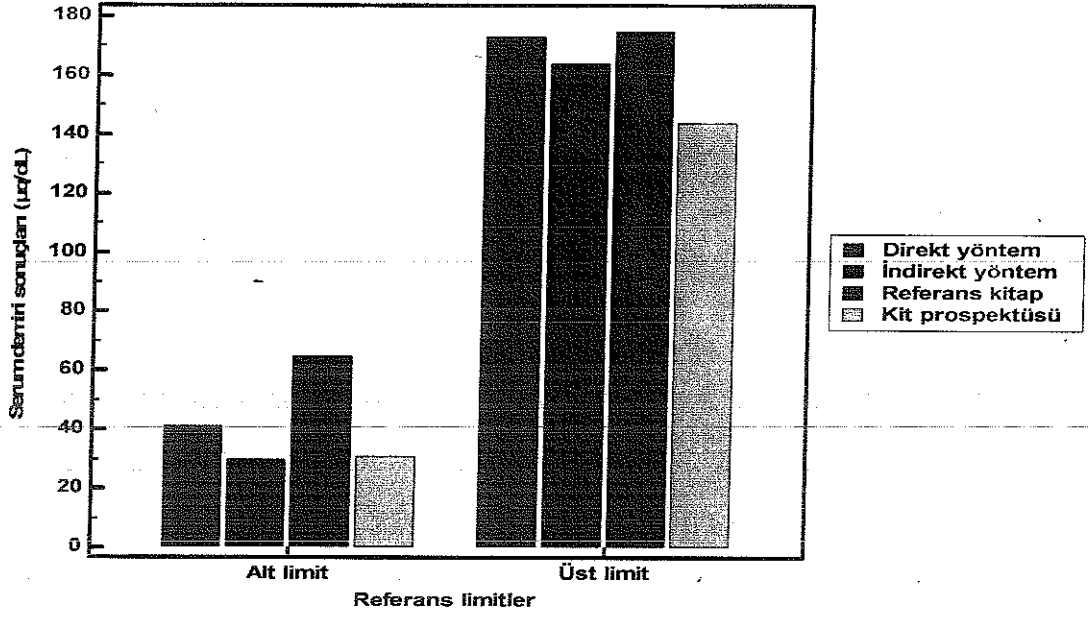
Bizim çalışmamız nihai manada indirekt referans aralık tesbiti, özel manada ise numune kabul zamanına göre referans aralığı tesbitidir. Buna göre, diurnal varyasyonu olan 7 analitle birlikte böyle bir varyasyonu göstermeyen 7 analitin referans aralıkları numune alma zamanına göre alt gruplandırılmasının yapılması sonucu bazı analitler için kit prospektüsünde belirtilen referans aralıkları ve bizim elde ettiğimiz referans aralıkları olan fark klinik açıdan anlamlı bulundu. Bu klinisyenlerin analiz sonuçlarını değerlendirmesinde önemli katkı sağlar.

### 5.3. Çalışmada Değerlendirilen Analitler

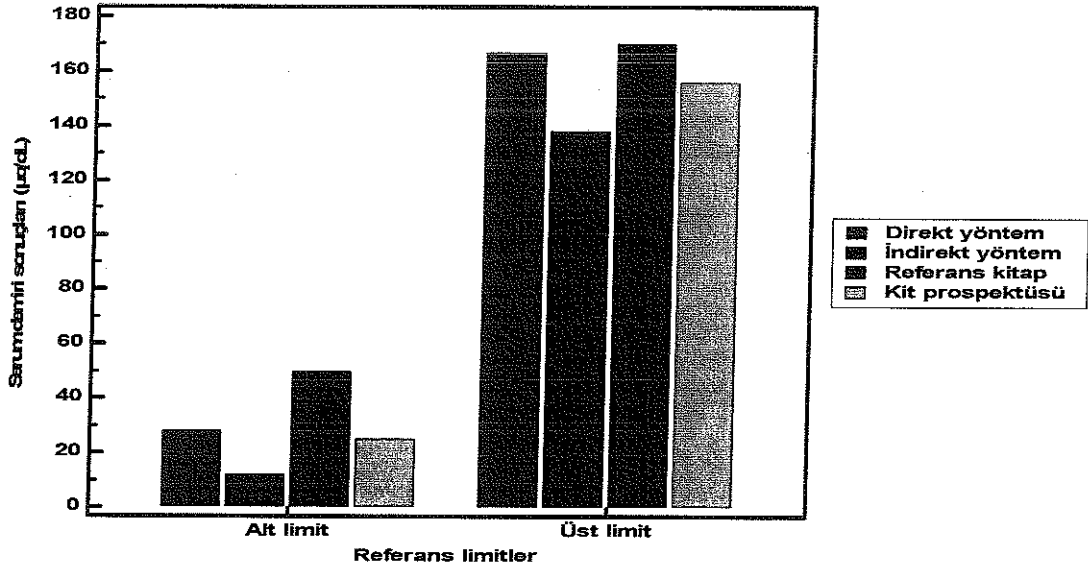
Laboratuvarımızda indirekt yöntemle, belli analitlerin referans aralıklarını belirlerken numune alma zamanına göre bulgular değerlendirilmiştir. Yaş ve cinsiyete göre oluşturulabilen alt gruplara ait veriler çalışılan parametrelerden çoğunda anlamlı bulunmuştur. Bulgular ve yöntemler aşağıda irdelenecektir.

#### 5.3.1. Serum Demiri

Serum demir düzeylerinde, kan alma zamanı, yaş ve cinsiyete göre anlamlı farklılıklar belirlendi (Tablo 9). Her iki cinste de gün içinde azalma görüldü (Şekil 4,5). Kan alma zamanları arasında farklılık sadece erkeklerde anlamlı bulundu (\*\* $p < 0.01$ ). Bulgular incelenerek saat 08:00-09:00 ile 09:00-15:00 şeklinde iki alt grup oluşturuldu. Böylelikle numune alma zamanı, cinsiyet ve yaş temelinde referans aralıklar elde ettik. Kaynaklarda sadece cinsiyete göre alt gruplandırma görüldüğünden (20,87) bulgularımızı buna göre karşılaştırdık. İndirekt referans aralık bulgularımızı referans kitap (87), kit prospektüs (70) ve direkt yöntem (88) referans aralıklarıyla kıyasladık. Referans kitaplarda kolorimetrik ölçüm yönteminin referans aralıkları bulunmasına rağmen cihaza özel referans aralıklar gözlenmemektedir (17,20,87). Direkt yöntem çalışması ise kolorimetrik ölçüm yapan farklı otoanalizör kullanılarak yapılmıştır (88). Serum demiri için dört farklı yöntemin elde ettiği elde edilen referans aralıkları Şekil 12 (erkeklerde) ve Şekil 13'te (bayanlarda) gösterdik.



Şekil 12: Erkekler için serum demirinin farklı yöntemlerden elde edilen referans aralıkları.



Şekil 13: Bayanlar için serum demirinin farklı yöntemlerden elde edilen referans aralıkları.

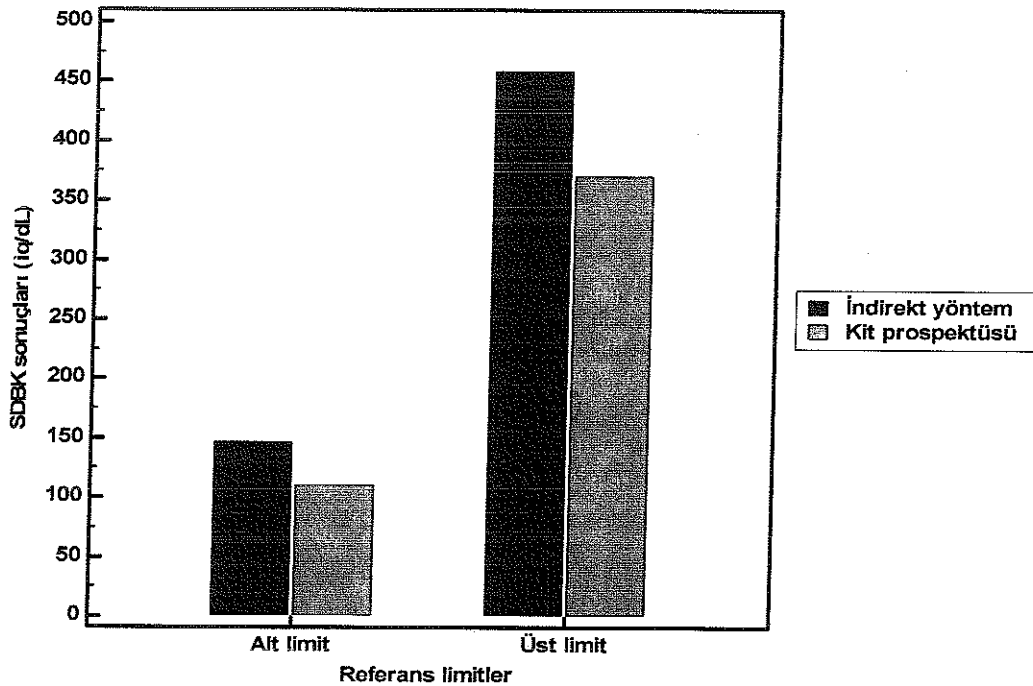
Şekil 12 ve 13'e göre serum demiri için dört farklı yöntemle elde edilen referans aralıkların neredeyse tamamı birbirinden farklıydı. İndirekt yöntem referans aralıklarını diğer yöntemlerin referans aralıklarıyla RCV konseptine göre (serum demiri için RCV değeri % 15) (40) kıyasladık. Alt limitler için erkek ve bayanlarda indirekt yöntemle direkt yöntem ve referans kitap verileri arasındaki farklılık klinik olarak anlamlıydı. Fakat erkeklerde alt limitler için indirekt yöntemle kit prospektüsü arasında farklılık % 3 olduğundan klinik olarak anlamlı değildi. Üst limitler için sadece bayanlarda indirekt yöntemle direkt yöntem ve referans kitap arasındaki farklılık klinik olarak anlamlı bulundu. Bizim çalışmamızda yaşa göre demir sonuçlarının farklı olmasından dolayı bu yöntemler arası kıyaslama tam olarak yapılamadı.

Çalışmamızda cinsiyet ve yaş temelinde alt ve üst referans limitlerinin belirlenmesi anlamlı bulunmuştur (Tablo 9). Ayrıca diğer yöntemlerden farklı olarak bizim bulgularımızda, kan alma zamanına göre gün içinde genel olarak azalan değerler bulunmasına rağmen anlamlı fark saat 08:00-09:00 ile 09:00-15:00 arasında bulundu. Saat 08:00-09:00 arası alınan kan numuneleri aç iken alındığından yüksek olması doğaldır. Egzersiz kan demir düzeylerini düşüreceğinden (20) günün ilerleyen saatlerinde günlük aktivite serum demir düzeylerin etkiler. Serum demiri için diurnal varyasyonunun düzensiz olduğu belirtilmektedir (87). Sabah seviyelerinde genel olarak gözlenen bu yüksekliği kesin olarak düzensiz diurnal ritim, açlık veya egzersiz gibi preanalitik faktörlere bağlayamamakla birlikte sabah 08:00-09:00 serum demir seviyelerinin daha yüksek olduğu şüphesizdir. Bununla birlikte çalışmamızda sabah seviyelerinde gözlenen yükseklik literatürle uyumludur (87). Ayrıca çalışmamızda yaş ilerledikçe erkeklerde düzenli bir azalma gözlenirken bayanlarda menapoz sonrası dönemde menüürasyonla kan kaybının durmasına bağlı serum demiri artışı dikkati çekmektedir. (Şekil 4,5). Literatürde sadece cinsiyet alt gruplarına göre referans aralıkların verilmiş olması yeterli değildir, kan alma zamanına göre farklı referans değerlere ihtiyaç vardır. Kan alma saatine ve yaşa göre indirekt yöntemle bulduğumuz referans aralıklarının analiz yorumlarına olumlu katkısı olabilir.

### 5.3.2. Serum Demir Bağlama Kapasitesi (SDBK)

SDBK düzeylerinde, yaş ve cinsiyete göre anlamlı farklılıklar belirlendi (Tablo 11). Kan alma zamanları açısından erkek ve bayanlarda anlamlı farklılık gözlenmedi. Böylelikle yaş ve cinsiyet temelinde SDBK referans aralıkları oluşturuldu.

Referans kitaplarda SDBK için referans aralık bulunmamaktadır (17,20,87). Çünkü, dünyada yaygın kullanılan bir parametre değildir. Benzer bir parametre olarak referans kitaplarda total demir bağlama kapasitesine ait ölçüm sistemi ve referans aralığı bulunmamaktadır (17,20,87). Bu nedenle indirekt referans aralık bulgularımızı sadece kit prospektüsündeki (71) kökenli referans aralıklarla kıyaslayabildik. Kit prospektüslerinde, sadece cinsiyete göre alt gruplandırma görülmektedir (71). Kit prospektüsü referans aralık değerleriyle kıyaslayabilmek için çalışmamızdaki SDBK bulgularını (erkek ve bayanları) karşılaştırdık (Şekil 14).



**Şekil 14:** Erkek ve bayanlarda SDBK için farklı yöntemlerden elde edilen referans aralıkları.

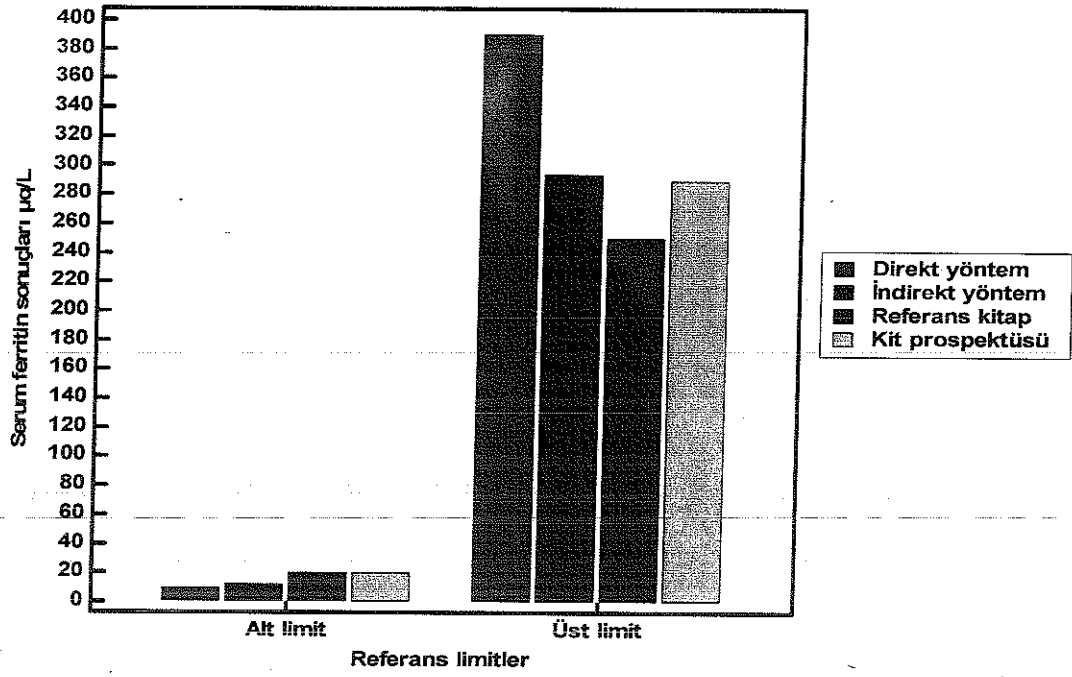
Çalışmamızda indirekt yöntem referans aralık limitlerinin kit prospektüs referans aralık limitlerinden daha yüksek olduğu görülmektedir. SDBK için RCV değeri bulunmadığından indirekt yöntem referans aralıklarını kit prospektüs referans aralıklarıyla RCV konseptine göre kıyaslayamadık. İndirekt referans bulgularımızın kit prospektüsü referans aralığı ile uyumlu çıkmaması, laboratuvarımıza özel SDBK limitlerinin belirlenmesinin önemini vurgulamaktadır.

Kit prospektüsünden farklı olarak bizim bulgularımıza göre yaş temelinde alt ve üst referans limitlerinin belirlenmesi anlamlı bulunmuştur (Tablo 11,12). Menapoz öncesi bayanlarda menstürasyona bağlı olarak kan ve demir kaybı sebebiyle SDBK yüksektir. 18-30 yaş arası bayanlarda SDBK referans aralık üst limiti 483  $\mu\text{g/dL}$  iken 70 yaş üstü bayanlarda bu limit 444  $\mu\text{g/dL}$  seviyesine düşmektedir. İndirekt yöntemle bulduğumuz yaşa göre referans aralıklarının analiz yorumlarına olumlu katkısı olabilir.

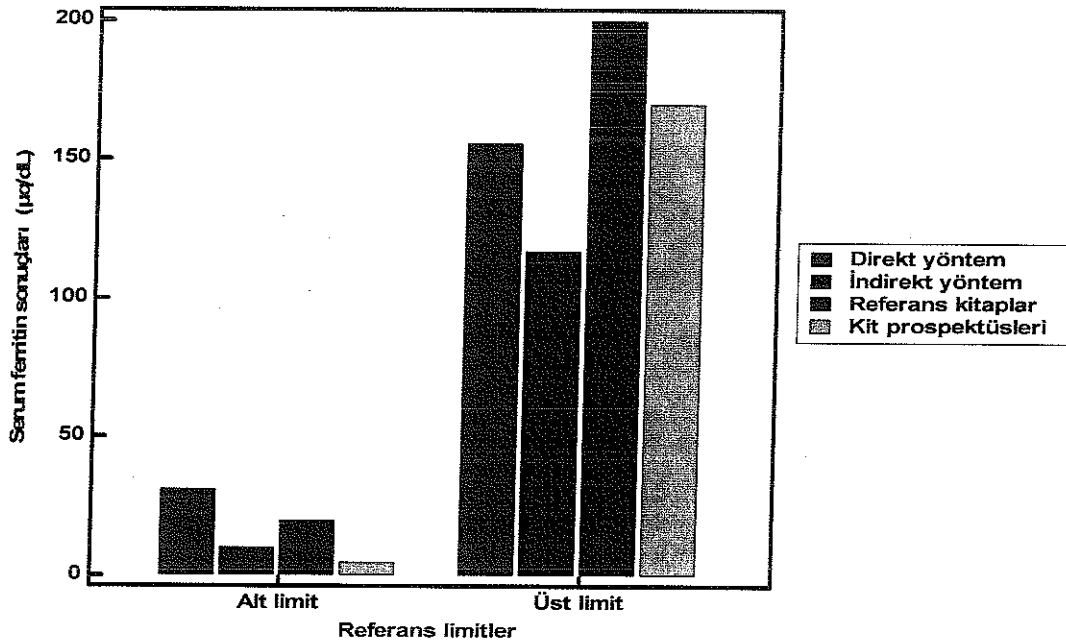
### 5.3.3. Serum Ferritini

Serum ferritin için kan alma zamanları açısından anlamlı farklılık gözlenmedi. Serum ferritin düzeylerinde, yaş ve cinsiyete göre anlamlı farklılıklar belirlendi (Tablo 13). Böylelikle yaş ve cinsiyet temelinde serum ferritin referans aralıkları oluşturuldu.

Kaynaklarda, sadece cinsiyete göre alt gruplandırma görülmektedir (20,87). Bu nedenle, literatürde verilen referans limitlerle çalışmamızdaki erkek ve bayanlarda bütün yaş gruplarını kapsayan verilerin limitleri arasında karşılaştırma yapıldı. İndirekt referans aralık bulgularımızı referans kitap (87), direkt yöntem (88) ve kit prospektüs (72) kökenli referans aralıklarıyla kıyasladık. Referans kitaplarda enzim immünoassay ölçüm yönteminin referans aralıkları bulunmasına rağmen cihaza özel referans aralıklar gözlenmemektedir (17,20,87). Serum ferritini için dört farklı yöntemin elde ettiği referans aralıkları Şekil 15 (erkeklerde) ve Şekil 16'da (bayanlarda) gösterdik.



Şekil 15: Erkeklerde serum ferritin için farklı yöntemlerden elde edilen referans aralıklar.



Şekil 16: Bayanlarda serum ferritin için farklı yöntemlerden elde edilen referans aralıklar.

Şekil 15 ve 16'ya göre serum ferritin referans aralık limitlerinin her bir yöntem için farklı olduğu görülmektedir. İndirekt yöntem referans aralıklarını diğer yöntemlerin referans aralıklarıyla RCV konseptine göre (serum ferritin için RCV değeri % 46) (40) kıyasladığımızda alt limitler için erkeklerde yöntemler arası farklılık gözlenmezken bayanlarda indirekt yöntemle diğer yöntemler arası farklılık klinik olarak anlamlıydı. Üst limitler için sadece bayanlarda indirekt yöntem referans aralıkları ile direkt yöntem referans aralıkları arasındaki fark klinik olarak anlamlı farklılık bulundu. Referans kitaplardaki direkt referans aralık belirlenmesi için kullanılan cihaza ait bilginin olmaması ve bizim çalışmamızda yaşa göre ferritin sonuçlarının farklı olmasından bu yöntemler arası kıyaslama tam olarak yapılamadı, yaşa göre oluşturulan gruplar karşılaştırıldı.

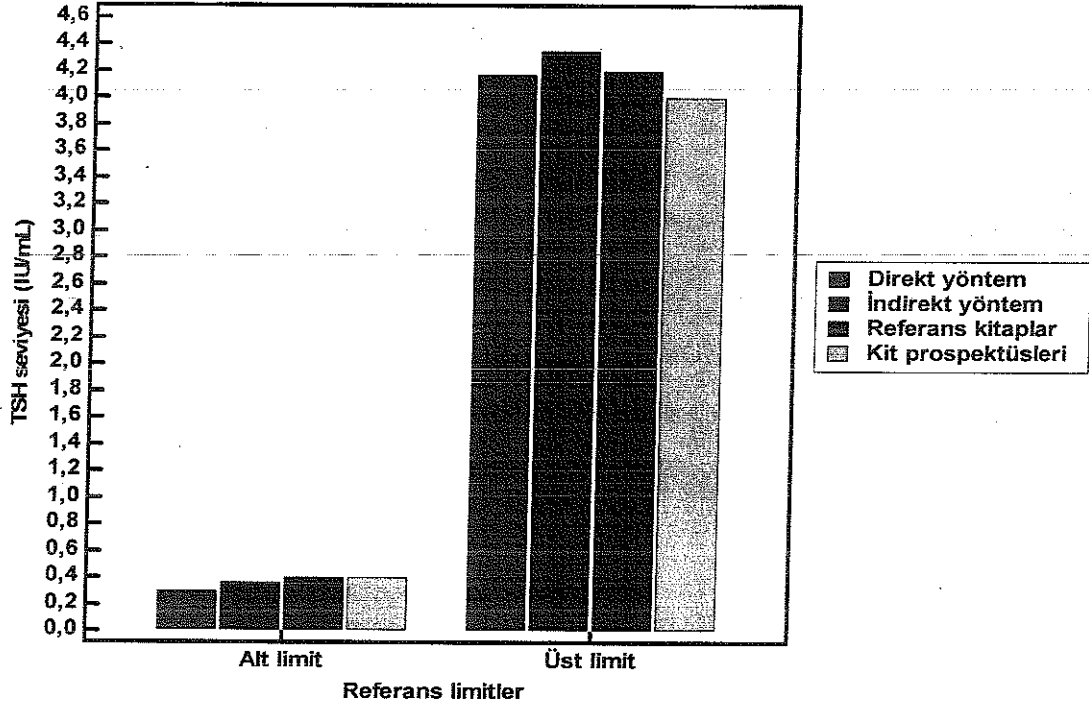
Bizim bulgularımıza göre yaş temelinde alt ve üst referans limitlerinin belirlenmesi özellikle bayanlarda anlamlı bulunmuştur (Tablo 14). Erkeklerde serum ferritini referans aralığı alt sınırı 11,7 uq/L iken bayanlarda 10,4 ile 12,6 uq/L arasında değişmektedir. Demir eksikliği anemisi için öngörülen tıbbi karar limitinin 20 uq/L olduğu düşünüldüğünde kendi değerlerimizin daha düşük olduğu görülmektedir. Yaşa göre indirekt yöntemle bulduğumuz referans aralıkların ve özellikle 20 µg/L'den daha düşük alt sınırları bulmamızın postanalitik kalite aşamasına olumlu katkısı olabilir.

#### 5.3.4. Serum TSH

Serum TSH düzeylerinde, kan alma zamanı, yaş ve cinsiyete göre anlamlı farklılıklar belirlendi (Tablo 15). Her iki cinste de gün içinde azalma görüldü (Şekil 6,7). Kan alma zamanları arasında farklılık sadece bayanlarda anlamlı bulundu (\*\*p<0.001). Bulgular incelenerek saat 08:00-10:00 ile 10:00-15:00 şeklinde iki alt grup oluşturuldu. Böylelikle numune alma zamanı, cinsiyet ve yaş temelinde anlamlı indirekt referans aralıklar elde edildi (Tablo 17).

Kaynaklarda, alt gruplandırma görülmemektedir (20,87). Literatürde verilen referans limitlerle çalışmamızdaki erkek ve bayanlarda bütün yaş gruplarını kapsayan verilerin limitleri arasında karşılaştırma yapıldı. İndirekt referans aralık bulgularımızı referans kitap (87), direkt yöntem (88) ve kit prospektüsü (73) kökenli referans

aralıklarıyla kıyasladık. Referans kitaplarda immunoassay ölçüm yönteminin referans aralıkları bulunmasına rağmen cihaza özel referans aralıklar gözlenmemektedir (17,20,87). Serum TSH için dört farklı yöntemin elde ettiği elde edilen referans aralıkları Şekil 17’de (erkek ve bayanlarda) gösterdik.



**Şekil 17:** Erkek ve bayanlarda serum TSH için farklı yöntemlerden elde edilen referans aralıklar.

Şekil 17’ye göre serum TSH için dört farklı yoldan elde edilen referans aralıklarının birbirine yakın seviyelerde olmasına rağmen neredeyse tamamı birbirinden farklıydı. İndirekt yöntem referans aralıkları ile diğer yöntem referans aralıklarını kıyasladığımızda TSH için RCV değeri % 61 (40) olduğundan dört yöntemin referans aralıkları arasında klinik farklılık gözlenmemiştir. Referans kitaplardaki referans aralık çalışmasında kullanılan cihaza ait bilginin olmaması ve bizim çalışmamızda kan alma zamanı, yaş ve cinsiyete göre serum TSH sonuçlarının farklı olmasından dolayı bu yöntemler arası kıyaslama tam olarak yapılamadı.

Bizim bulgularımıza göre kan alma zamanı, yaş ve cinsiyet temelinde alt ve üst referans limitlerinin belirlenmesi anlamlı bulunmuştur (Tablo 16). Kan alma

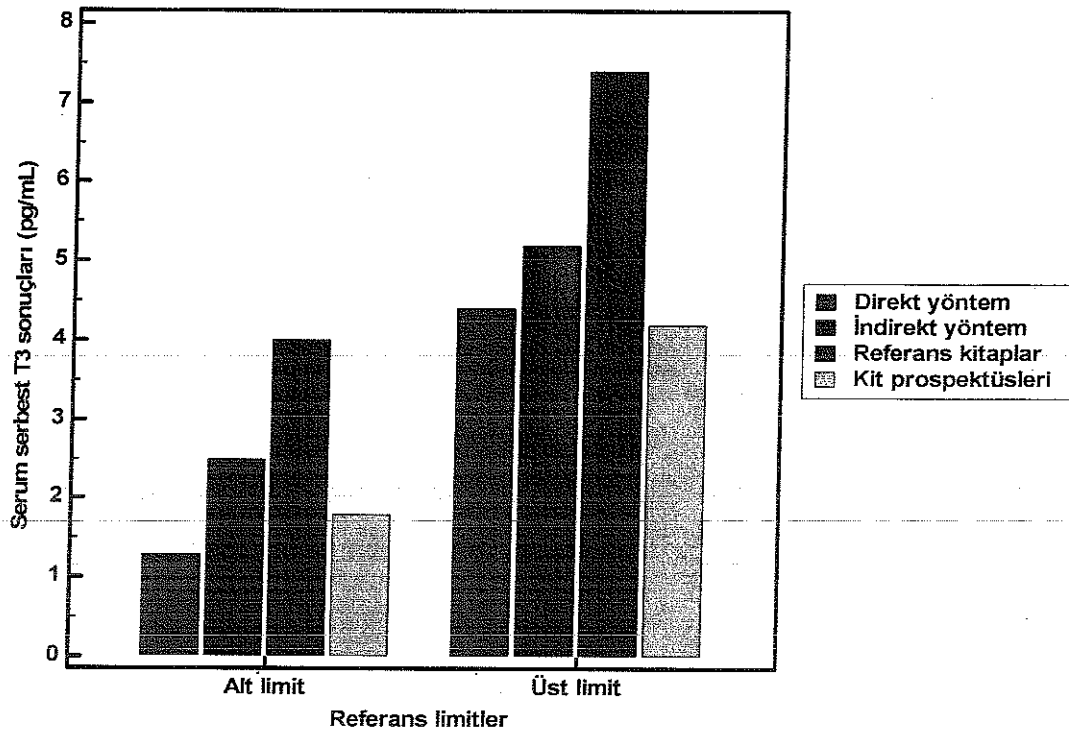


zamanına göre gün içinde genel olarak azalan değerler bulunmasına rağmen anlamlı fark saat 08:00-10:00 ile 10:00-15:00 arasında bulundu. Diurnal ritmi olan serum TSH gece saat 02:00-04:00 arasında pik yapmakta ve akşam 17:00-18:00 arası azalmaktadır (20,87,89). Çalışmamızda sabah seviyelerinde gözlenen yükseklik literatürle uyumludur (17,20). Erkeklerdeki serum TSH seviyelerinin bayanlara göre daha düşük olduğu görüldü (Tablo 15). TSH seviyeleri için cinsiyetler arası farklılık literatürde anlamlı bulunmamıştır (20,90). Ayrıca çalışmamızda yaş ilerledikçe serum TSH için erkek ve bayanlarda düzenli bir azalma dikkati çekmektedir. (Şekil 6,7). Bu sonuca rağmen literatürde yaş ilerledikçe referans üst limitinin yükseldiği görülmektedir (20,87). Serum TSH için bazı yazarlar üst referans aralık limitinin 4 IU/mL yerine 2,5 IU/mL olması gerektiğini öne sürmüşlerdir (3). Bizim çalışmamız serum TSH için tek bir referans aralık önermemekte, yaş ve cinsiyete göre değişen referans aralıkları sunmaktadır. Ancak literatürde, sadece yaş alt gruplarına göre referans aralıkların verilmiş olması başka alt gruplardaki verilerin genelleştirilememesinden kaynaklanıyor olabilir. Buna rağmen, kan alma zamanı ve indirekt yöntemle bulduğumuz cinsiyete göre referans aralıklarının hasta sonuçlarının değerlendirilmesinde fayda sağlayabilir.

### 5.3.5. Serum Serbest T<sub>3</sub>

Serum serbest T<sub>3</sub> düzeylerinde, kan alma zamanı ve yaşa göre anlamlı farklılıklar belirlendi (Tablo 17). Her iki cinste de gün içinde azalma görüldü. Kan alma zamanları arasında farklılık sadece bazı yaş alt gruplarında anlamlı bulundu (\*p<0.05). Buna rağmen sadece yaş temelinde referans aralıklar elde edildi.

Kaynaklarda, alt gruplandırma görülmemektedir (20,87). Literatürde verilen referans limitlerle çalışmamızdaki erişkinlere ait bütün yaş gruplarını kapsayan verilerin limitleri arasında karşılaştırma yapıldı. İndirekt referans aralık bulgularımızı referans kitap (87), direkt yöntem (88) ve kit prospektüsü (74) kökenli referans aralıklarıyla (Şekil 20'de, erkek ve bayanlarda) kıyasladık (Şekil 18).



**Şekil 18:** Erkek ve bayanlarda serum serbest  $T_3$  için farklı yöntemlerden elde edilen referans aralıklar.

Şekil 18'e göre göre serum serbest  $T_3$  için dört farklı yoldan elde edilen referans aralıklarının neredeyse tamamı birbirinden farklıydı. İndirekt yöntemle belirlediğimiz referans aralığının literatürdeki seviyelerden daha dar aralıkta olması doğaldır. Ancak, indirekt referans aralıklarımızın literatür ve kit prospektüsünden farklı bulunması kendi referans aralıklarımızın analiz raporlarında kullanmamız gerektiğini gösteriyor.

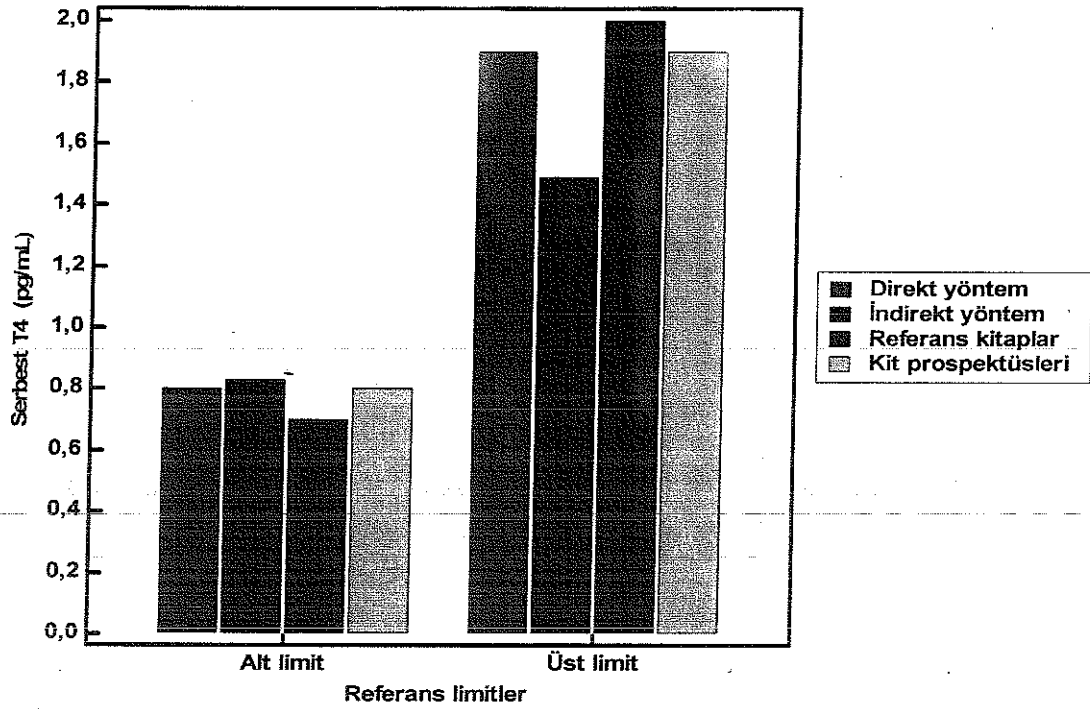
İndirekt yöntem referans aralıklarını diğer yöntemlerin referans aralıklarıyla RCV konseptine göre (serum serbest  $T_3$  için RCV değeri % 24) (40) kıyasladığımızda alt limitler için indirekt yöntemle diğer yöntemler arası farklılık klinik olarak anlamlıydı. Üst limitler için sadece erkeklerde indirekt yöntemle referans kitap arasındaki farklılık klinik olarak anlamlıydı. Referans kitaplardaki referans aralık çalışmasında kullanılan cihaza ait bilginin olmaması ve bizim çalışmamızda yaşa göre serbest  $T_3$  sonuçlarının farklı olmasından bu yöntemler arası kıyaslama tam olarak yapılamadı.

Çalışmamız diğer yöntemlerden farklı olarak yaş temelinde alt ve üst referans limitlerinin belirlenmesi anlamlı bulmuştur (Tablo 18). Kan alma zamanına göre gün içinde genel olarak azalan değerler bulunmasına rağmen anlamlı farklılık güçlü değildi (\* $p<0,05$ ). Bu yüzden kan alma zamanına göre referans aralıkları oluşturulmadı. Diurnal ritmi olan serum serbest  $T_3$  serum TSH'ya benzer şekilde gündüz düşmekte gece ise yükselmektedir (89). Sabah saatlerinde gözlenen bu yükseklik literatürde de çalışmamıza paralel şekilde serum serbest  $T_3$  seviyeleri üzerine etkisi anlamlı görülmemektedir (90). Tiroid fonksiyonu en iyi gösteren serbest  $T_3$  testinin çalışmamızda yaş ilerledikçe erkek ve bayanlarda düzenli bir azalma gözlenmiştir. Ancak literatürde alt gruplandırma olmadan referans aralıklarının verilmiş olması alt gruplardaki verilerin genelleştirilememesinden kaynaklanıyor olabilir. Buna rağmen, yaşa göre indirekt yöntemle bulduğumuz referans aralıklarının analiz yorumlarına olumlu katkısı olabilir.

#### 5.3.6. Serum Serbest $T_4$

Serum serbest  $T_4$  düzeylerinde, kan alma zamanı, yaş ve cinsiyete göre anlamlı farklılıklar belirlendi (Tablo 19). Her iki cinste de gün içinde azalma görüldü. Kan alma zamanları arasında farklılık sadece bayan alt grubunun bir yaş alt grubunda anlamlı farklılık bulundu ( $p<0.01$ ). Buna rağmen yaş ve cinsiyet temelinde referans aralıkları elde edildi.

Kaynaklarda, alt gruplandırma görülmemektedir (20,87). Literatürde verilen referans limitlerle çalışmamızdaki erkek ve bayanlarda bütün yaş gruplarını kapsayan verilerin limitleri arasında karşılaştırma yapıldı. İndirekt referans aralık bulgularımızı referans kitap (87), direkt yöntem (88) ve kit prospektüs (75) kökenli referans aralıklarıyla kıyasladık. Referans kitaplarda denge diyalizi (equilibrium dialysis) ölçüm yönteminin referans aralıkları bulunmasına rağmen ölçüm yöntemi ve analiz sistemi hakkında detaylı bilgi verilmemektedir. (20,87). Sonuçlarımızı irdelemek için serum serbest  $T_4$  bulgularımızı (erkek ve bayanlar beraber değerlendirilerek) diğer üç yöntemle karşılaştırdık (Şekil 19).



**Şekil 19:** Erkek ve bayanlarda serum serbest T<sub>4</sub> için farklı yöntemlerden elde edilen referans aralıklar.

Şekil 19'a göre indirekt yöntem referans aralık limitlerinin diğer yöntemlerin referans aralık limitlerinden daha dar olduğu görülmektedir. İndirekt yöntem referans aralıklarını diğer yöntemlerin referans aralıklarıyla RCV konseptine göre (serum serbest T<sub>4</sub> için RCV değeri % 19) (40) kıyasladığımızda alt limitler için erkek ve bayanlarda indirekt yöntemle diğer yöntemler arası farklılık gözlenmedi. Üst limitler için indirekt yöntemle diğer yöntemler arası farklılık klinik olarak anlamlıydı. Referans kitaplardaki referans aralık çalışmasında kullanılan yöntem ve cihaza ait bilginin yetersizliği nedeniyle serbest T<sub>3</sub> sonuçlarının farklı olmasından dolayı bu yöntemler arası kıyaslama doğru olarak yapılamadı.

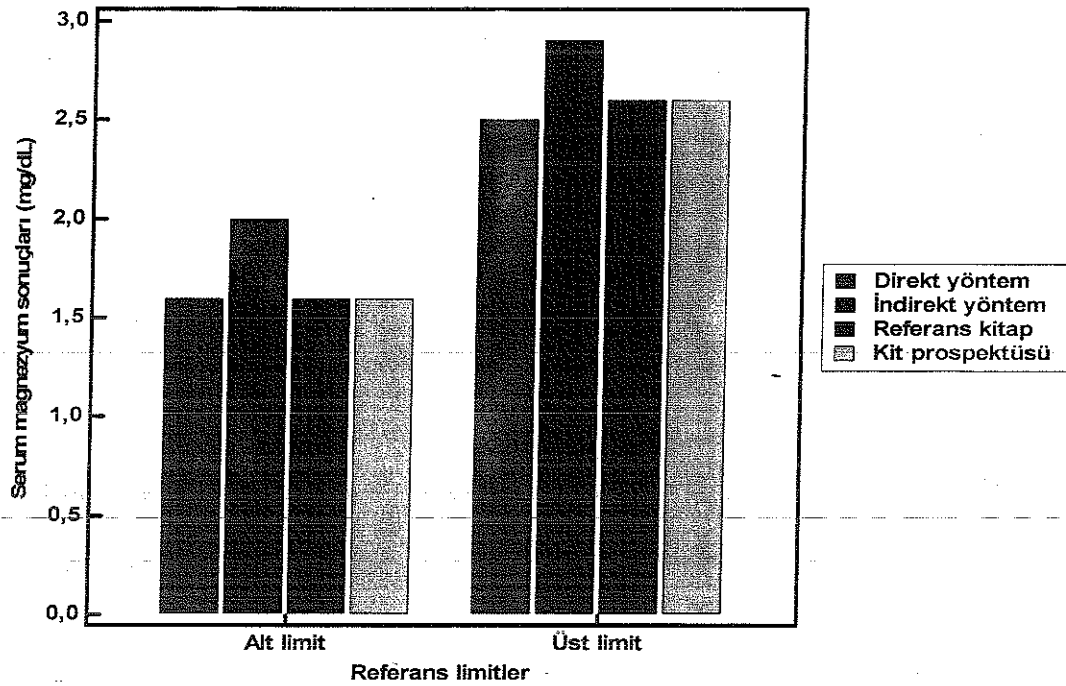
Diğer yöntemlerden farklı olarak bizim bulgularımıza göre yaş ve cinsiyet temelinde alt ve üst referans limitlerinin belirlenmesi anlamlı bulunmuştur (Tablo 20). Kan alma zamanına göre gün içinde genel olarak azalan değerler bulunmasına rağmen anlamlı farklılık güçlü değildi (\*p<0,05). Bazı yayınlarda serum serbest T<sub>4</sub> için serum TSH ve serbest T<sub>3</sub> den farklı olarak diurnal ritim gözlenmemektedir (89).

Bizim çalışmamız da literatürle paralellik göstermekte, sabah seviyelerinde yükseklik gözlenmesine rağmen serum serbest  $T_4$  seviyeleri üzerine etkisi anlamlı görülmemektedir (79). Erkeklerdeki serum serbest  $T_3$  seviyelerinin bayanlara göre genel olarak daha düşük olduğu görüldü (Tablo 19). Cinsiyet farklılığı literatürde anlamlı bulunmamıştır (20,90). Ayrıca çalışmamızda yaş ilerledikçe erkeklerde düzenli bir azalma gözlenirken bayanlarda düzenli bir değişim görülmedi. Ancak literatürde alt gruplandırma olmadan referans aralıkların verilmiş olması alt gruplardaki verilerin genelleştirilememesinden kaynaklanıyor olabilir. Buna rağmen, yaş ve cinsiyete göre indirekt yöntemle bulduğumuz referans aralıklarının hasta sonuçlarının değerlendirilmesinde klinisyene fayda sağlayabilir.

### 5.3.7. Serum Magnezyumu

Serum magnezyum düzeyleri için kan alma zamanları açısından anlamlı farklılık gözlenmedi. Serum magnezyum düzeylerinde, yaş ve cinsiyete göre anlamlı farklılıklar belirlendi (Tablo 21). Böylelikle yaş ve cinsiyet temelinde serum magnezyum referans aralıkları oluşturuldu.

Bazı kaynaklarda, serum magnezyumu için sadece yaşa göre alt gruplandırma görülürken (87) bazılarında alt gruplandırma görülmemektedir (20). Literatürde verilen referans limitlerle çalışmamızdaki erkek ve bayanlarda bütün yaş gruplarını kapsayan verilerin limitleri arasında karşılaştırma yapıldı. İndirekt referans aralık bulgularımızı referans kitap (87), direkt yöntem (88), ve kit prospektüs (76) kökenli referans aralıklarıyla kıyasladık. Referans kitaplarda atomik emisyon spektroskopisi ölçüm yönteminin referans aralıkları bulunmasına rağmen yöntemle özel referans aralıklar gözlenmemektedir (20,87). Serum magnezyumu referans değer alt ve üst limitlerini farklı yöntemin elde ettiği referans aralıkları ile Şekil 20'de (erkek ve bayanlarda) gösterdik.



**Şekil 20:** Erkek ve bayanlarda serum magnezyumu için farklı yöntemlerden elde edilen referans aralıklar.

Şekil 20'ye göre indirekt yöntem referans aralık limitlerinin diğer yöntemlere ait referans aralık limitlerinden daha yüksek olduğu görülmektedir. İndirekt yöntem referans aralıklarını diğer yöntemlerin referans aralıklarıyla RCV konseptine göre (serum magnezyumu için RCV değeri % 11) (40) kıyasladığımızda alt limitler için indirekt yöntemle diğer yöntemler arası farklılık klinik olarak anlamlıydı. Üst limitler için indirekt yöntemle direkt yöntemler arasındaki klinik olarak anlamlı farklılık bulundu. Direkt yöntem çalışmasının Bursa ilinde yapılmasına rağmen üst limitler açısından çalışmamızda bulduğumuz 2,9 mg/dL değerinden daha düşük sonuç (2,6 mg/dL) gözlenmiştir. Referans kitaplardaki referans aralık çalışmasında kullanılan analitik metodun kolorimetrik olmaması ve bizim çalışmamızda yaş ve cinsiyete göre serum magnezyum sonuçlarının farklı olmasından dolayı bu yöntemler arası anlamlı bir kıyaslama yapılamadı.

Çalışmamızda farklı olarak bulgularımıza göre yaş ve cinsiyet temelinde alt ve üst referans limitlerinin belirlenmesi anlamlı bulunmuştur (Tablo 22). Genellikle erkeklerde bayanlara kıyasla daha yüksek serum magnezyum seviyeleri bulundu

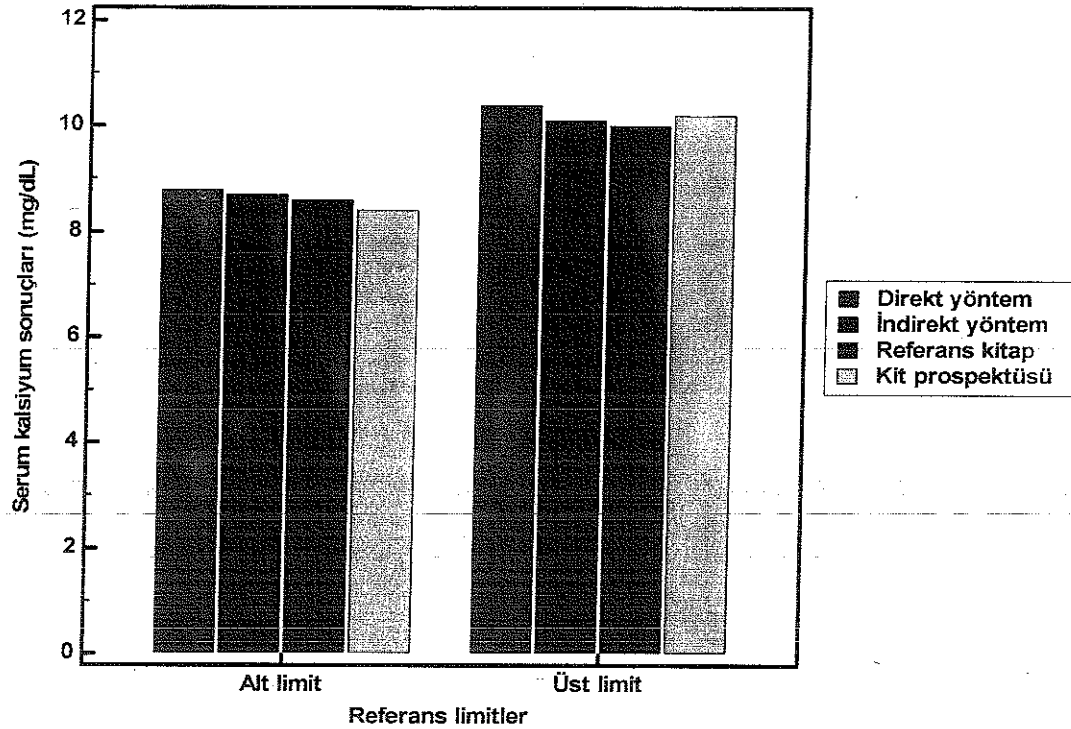
(Tablo 22). Özellikle erkeklerde olmak üzere her iki cinste de 51 yaş ve sonrasında serum magnezyumu düzeylerinin azaldığı gözlenmektedir. Böyle bir azalma istatistiki olarak anlamlı bulunmasına rağmen alt grupların hepsinin üst limiti yüksek bulundu. Bu yüzden yaş ve cinsiyete göre indirekt yöntemle bulduğumuz referans aralıkların postanalitik aşamada katkısı olabilir.

### 5.3.8. Serum Total Kalsiyumu

Serum total kalsiyum için kan alma zamanları açısından özellikle bayanlarda anlamlı farklılık gözlemlendi (\* $p < 0,05$ , \*\* $p < 0,01$ ). Serum total kalsiyum düzeylerinde, yaş ve cinsiyete göre anlamlı farklılıklar belirlendi (Tablo 23). Fakat kan alma zamanına göre 08:00-10:00 ile 10:00-15:00 arasında anlamlı farklılık bulunmasına rağmen elde edilen referans aralıklar birbirinin aynı olmasından kan alma zamanına göre referans aralıklar oluşturulmadı. Bu yüzden yaş ve cinsiyet temelinde serum total kalsiyum referans aralıkları oluşturuldu.

Kaynaklarda, serum total kalsiyumu için sadece yaşa göre alt gruplandırma görülmektedir (87). Literatürde verilen referans limitlerle çalışmamızdaki erkek ve bayanlarda bütün yaş gruplarını kapsayan verilerin limitleri arasında karşılaştırma yapıldı. İndirekt referans aralık bulgularımızı referans kitap (87), kit prospektüsü (77) ve direkt yöntem (88) kökenli referans aralıklarıyla kıyasladık ve Şekil 21’de (erkek ve bayanlar toplamı olarak) gösterdik.

Şekil 21’e göre serum total kalsiyumu için dört farklı yoldan elde edilen referans aralıklar birbirine yakındı. İndirekt yöntem referans aralıklarını diğer yöntemlerin referans aralıklarıyla RCV konseptine göre (serum total kalsiyumu için RCV değeri % 5) (40) kıyasladığımızda alt ve üst limitler için indirekt yöntemle diğer yöntemler arasında anlamlı farklılık gözlenmedi. Bizim çalışmamızda yaş ve cinsiyete göre serum total kalsiyumu sonuçlarının farklı olmasından bu yöntemler arası kıyaslama yapılmadı.



**Şekil 21:** Erkek ve bayanlarda serum total kalsiyumu için farklı yöntemlerden elde edilen referans aralıklar.

Diğer yöntemlerden farklı olarak bizim bulgularımızda kan alma zamanı, yaş ve cinsiyete göre alt ve üst referans limitlerinin belirlenmesi anlamlı bulunmuştur (Tablo 23). Kan alma zamanına göre öğlene doğru total kalsiyum düzeylerinin sabah seviyelerine göre daha düşük olduğu bulundu (Tablo 23). İstatistiki olarak kan alma zamanına göre anlamlı farklılık görülmesine rağmen bu saatlere göre oluşturulan referans aralıklar birbirinin aynısı olduğundan kan alma saatinde referans aralıklar düzenlenmedi. Yaş ve cinsiyete göre alt gruplandırma literatürde anlamlı bulunmamıştır (20). Ayrıca literatürde gece seviyelerinin daha düşük olduğu, sabah saat 08:00'de en yüksek konsantrasyonlara ulaştığı belirtilmektedir (20,87). Böyle bir diurnal varyasyonu olan serum total kalsiyumu hastanın serum total proteini seviyelerine bağlı olarak da değişebilmektedir. Genellikle erkeklerde bayanlara kıyasla daha yüksek serum total kalsiyumu seviyeleri bulundu (Tablo 23). Özellikle erkeklerde olmak üzere her iki cinsten de yaş ilerledikçe serum kalsiyumu seviyelerinin düştüğü görüldü. Bu düşme rakamı olarak 10,1 mg/dL'den 10,0

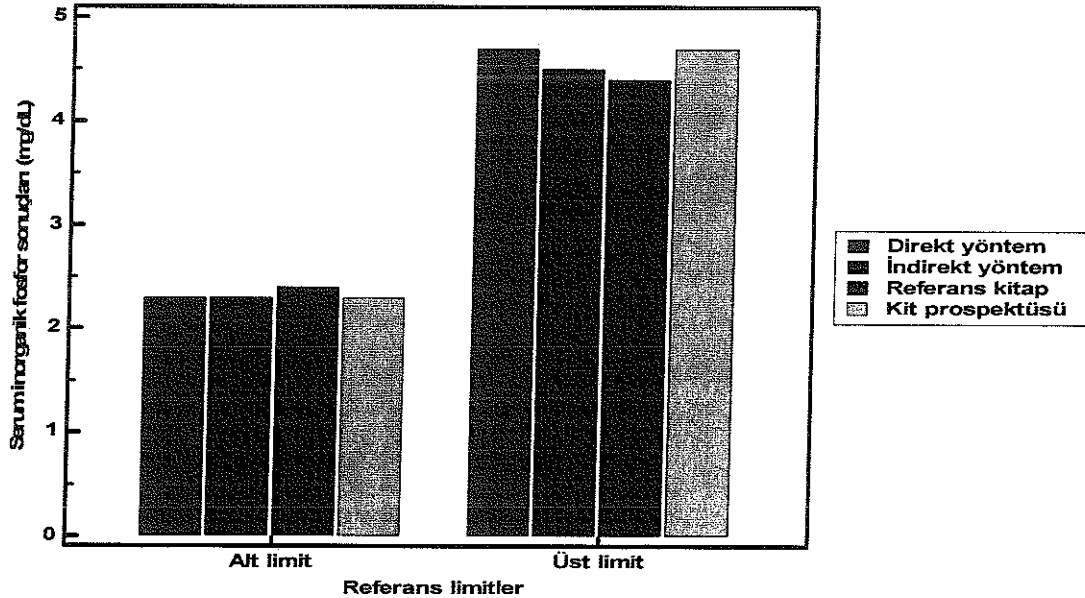


mg/dL' yedir. Bu yüzden yaş ve cinsiyete göre indirekt yöntemle bulduğumuz referans aralıkların hasta sonuçlarının değerlendirilmesine katkı sağlayabilir.

### 5.3.9. Serum İnorganik Fosforu

Serum inorganik fosforu düzeylerinde, kan alma zamanı, yaş ve cinsiyete göre anlamlı farklılıklar belirlendi (Tablo 25). Kan alma zamanları arasında farklılık sadece erkeklerde anlamlı bulundu ( \*\*p<0,01, \*\*\*p<0,001). Bulgular incelenerek saat 08:00-09:00, 09:00-12:00 ile 12:00-15:00 şeklinde üç alt grup oluşturuldu. Böylelikle kan alma zamanı, cinsiyet ve yaş temelinde referans aralıklar elde edildi.

Kaynaklarda, serum inorganik fosforu için yaş ve kısmen cinsiyete göre alt gruplandırma görülmektedir (20,87). Literatürde verilen referans limitlerle çalışmamızdaki erkek ve bayanlarda bütün yaş gruplarını kapsayan verilerin limitleri arasında karşılaştırma yapıldı. İndirekt referans aralık bulgularımızı referans kitap (87), kit prospektüsü (78) ve direkt yöntem (88) kökenli referans aralıklarıyla kıyasladık. Serum inorganik fosforu için dört farklı yöntemin elde ettiği referans aralıkları Şekil 22'de (erkek ve bayanlarda) gösterdik.



**Şekil 22:** Erkek ve bayanlarda serum inorganik fosforu için farklı yöntemlerden elde edilen referans aralıklar.

Şekil 22'ye göre serum inorganik fosforu için dört farklı yoldan elde edilen referans aralıkların tamamı birbirinden farklıydı. İndirekt yöntem referans aralıklarını diğer yöntemlerin referans aralıklarıyla RCV konseptine göre (serum inorganik fosforu için RCV değeri % 26) (40) kıyasladığımızda alt ve üst limitler için indirekt yöntemle diğer yöntemler arasında anlamlı farklılık gözlenmedi.

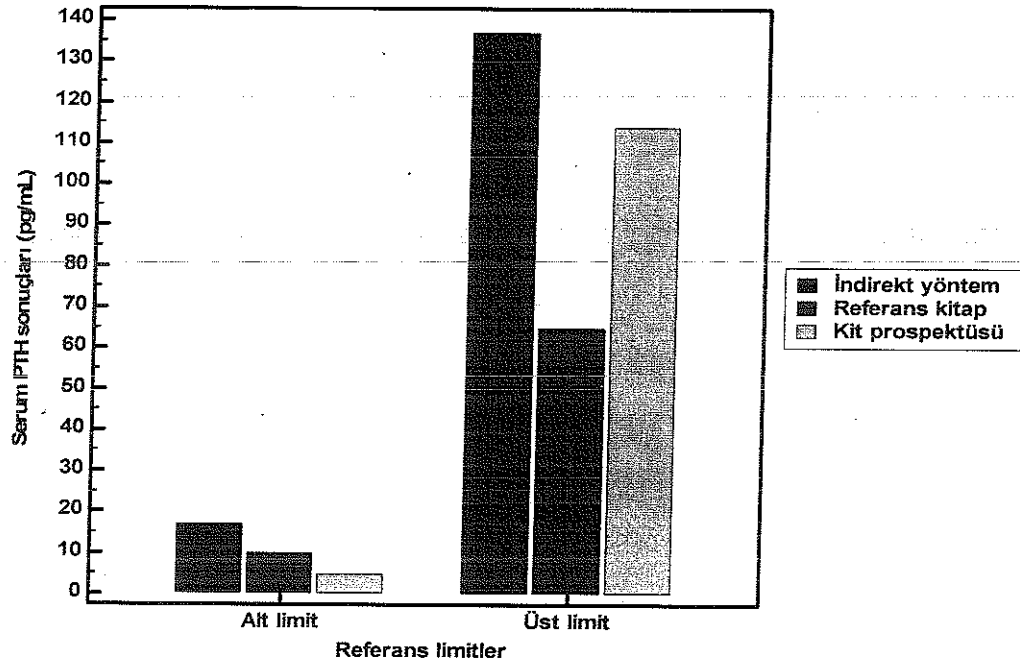
Bizim bulgularımıza göre kan alma zamanı, yaş ve cinsiyet temelinde alt ve üst referans limitlerinin belirlenmesi anlamlı bulundu (Tablo 26). Kan alma zamanına göre gün içinde genel olarak artan değerler bulunmasına rağmen anlamlı fark saat 08:00-09:00, 09:00-12:00 ile 12:00-15:00 arasında bulundu. Öğle sonu seviyelerinde gözlenen bu yükseklik literatürle uyumludur (20). Çalışmamızda referans aralık üst limitleri için erkeklerde bulduğumuz en yüksek değer (saat 12:00-15:00 için 4,5 mg/dL) ile en küçük değer (saat 08:00-09:00 için 4,4 mg/dL) arasındaki fark 0,1 mg/dL'ydı. Diurnal varyasyonun yanında alınan diyet, büyüme hormonu seviyeleri ve renal fonksiyona bağlı olarak serum inorganik fosfor seviyeleri değişebilmektedir (87). Erkeklerdeki serum inorganik fosforu seviyelerinin bayanlara göre daha düşük olduğu görüldü (Tablo 25). Cinsiyet farklılığı literatürde anlamlı bulunmamıştır (20). Ayrıca çalışmamızda yaş ilerledikçe serum inorganik fosforu için erkeklerde düşme gösterirken bayanlarda artmaktadır (Şekil 8,9). Ancak literatürde alt gruplandırma olmadan referans aralıkların verilmiş olması alt gruplardaki verilerin genelleştirilememesinden kaynaklanıyor olabilir. Buna rağmen, kan alma zamanı, cinsiyet ve yaşa göre indirekt yöntemle bulduğumuz referans aralıklarının analiz yorumlarına olumlu katkısı olabilir.

### 5.3.10. Serum Parathormonu

Serum parathormonu düzeylerinde, sadece yaşa göre anlamlı farklılıklar belirlendi (Tablo 27). Kan alma zamanları açısından anlamlı farklılık gözlenmedi. Böylelikle yaş temelinde serum parathormonu referans aralıkları oluşturuldu.

Kaynaklarda, serum parathormonu için alt gruplandırma görülmemektedir (20,87). Literatürde verilen referans limitlerle çalışmamızdaki erişkinlerin bütün yaş gruplarını kapsayan verilerin limitleri arasında karşılaştırma yapıldı. İndirekt referans aralık bulgularımızı referans kitap (87) ve kit prospektüs (79) kökenli referans

aralıklarıyla kıyasladık. Referans kitaplarda immunoassay ölçüm yönteminin referans aralıkları bulunmasına rağmen cihaza özel referans aralıklar gözlenmemektedir (20). Serum parathormonu için üç farklı yöntemin elde ettiği referans aralıkları Şekil 23'te (erkek ve bayanlarda) gösterdik.



**Şekil 23:** Erkek ve bayanlarda serum parathormonu için farklı yöntemlerden elde edilen referans aralıklar.

Şekil 23'e göre serum parathormonu için indirekt yöntem referans aralık limitleri diğer yöntemlerin limitlerinden daha yüksekti. İndirekt yöntem referans aralıklarını diğer yöntemlerin referans aralıklarıyla RCV konseptine göre (serum parathormonu için RCV değeri % 80) (40) kıyasladık, alt ve üst limitler için indirekt yöntemle diğer yöntemler arasında anlamlı farklılık gözlenmedi. Referans kitaplardaki referans aralık çalışmasında kullanılan cihaza ait bilginin ve yöntemin yeterli olmaması ve bizim çalışmamızda yaşa göre serum parathormonu sonuçlarının farklı olmasından bu yöntemler arası kıyaslama tam olarak yapılamadı.

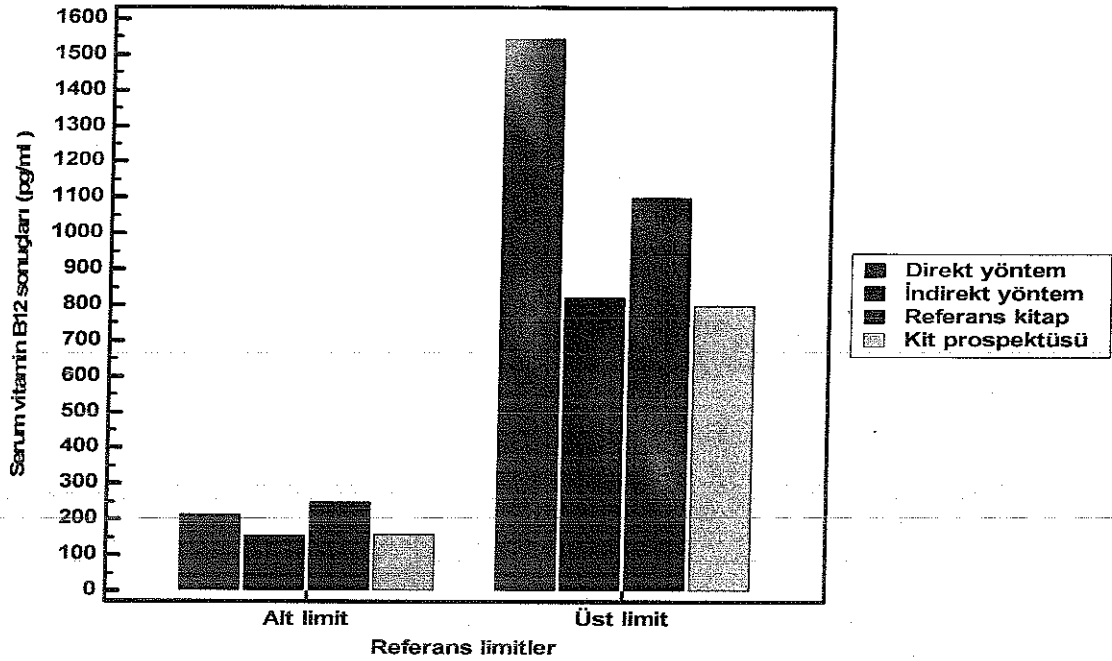
Diğer yöntemlerden farklı olarak bizim bulgularımızda yaşa göre alt ve üst referans limitlerinin belirlenmesi anlamlı bulunmuştur (Tablo 28). Çalışmamızda yaş ilerledikçe serum parathormonu seviyelerinin yükseldiği gözlenmiştir. 60 yaş öncesi

erişkinlerde referans aralık üst limit 128 pg/mL iken 61 yaş sonrasında 137 pg/mL'ye yükselmektedir. Bu yükselmeyi Immulite 2000 (Siemens, ABD) cihazı kit prospektüsünde serum intak parathormonu ölçüldüğü belirtilmesine rağmen böbrek ve karaciğerde parathormonun metabolize edilmesiyle oluşan inaktif parathormon fragmanlarını ölçebileceğinden renal fonksiyonun azaldığı ileri yaşlarda serum parathormonun yaşa bağlı olarak yükselmesi mümkündür. Ayrıca çalışmamızda yaş artışına bağlı olarak total kalsiyum düzeylerinde azalma olması da serum parathormon düzeylerini arttırmaktadır. Çünkü total kalsiyumun kandaki düzeyi ile serum parathormon düzeyi arasında ters orantı vardır (91). Serum parathormonu yaş ilerledikçe seviyeleri artış göstermesine rağmen yaşa göre alt gruplandırma literatürde anlamlı bulunmamıştır (20). Ayrıca literatürde gece seviyelerinin daha yüksek, sabah erken saatlerdeki seviyelerin düşük olduğu belirtilmektedir (20). İndirekt yöntemle bulduğumuz yaşa göre referans aralıklarının analiz yorumlarına olumlu katkısı olabilir.

#### 5.3.11. Serum Vitamin B<sub>12</sub>

Serum vitamin B<sub>12</sub> düzeylerinde, kan alma zamanı ve cinsiyet açısından farklılık gözlenmezken yaşa göre anlamlı farklılıklar belirlendi (Tablo 29). Sonuç olarak yaş temelinde serum vitamin B<sub>12</sub> referans aralıkları oluşturuldu.

Kaynaklarda, serum vitamin B<sub>12</sub> için alt gruplandırma görülmemektedir (87). Literatürde verilen referans limitlerle çalışmamızdaki erkek ve bayanlarda bütün yaş gruplarını kapsayan verilerin limitleri arasında karşılaştırma yapıldı. İndirekt referans aralık bulgularımızı referans kitap (87), direkt yöntem (88) ve kit prospektüsü (80) kökenli referans aralıklarıyla kıyasladık. Referans kitaplarda immunoassay ölçüm yöntemi referans aralıkları bulunmasına rağmen cihaza özel referans aralıklar gözlenmemektedir (20,87). Serum vitamin B<sub>12</sub> için dört farklı yöntemin referans aralıklarını Şekil 24'te (erkek ve bayanlarda) gösterdik.



**Şekil 24:** Erkek ve bayanlarda serum vitamin B<sub>12</sub> için farklı yöntemlerden elde edilen referans aralıklar.

Şekil 24'e göre serum vitamin B<sub>12</sub> için indirekt yöntemin referans aralık limitiyle kit prospektüs limitleri birbirine yakındı. İndirekt yöntem referans aralıklarını diğer yöntemlerin referans aralıklarıyla RCV konseptine göre (serum vitamin B<sub>12</sub> için RCV değeri % 46) (40) kıyasladığımızda klinik olarak üst limitler açısından indirekt yöntem limitiyle direkt yöntem limiti arasında anlamlı farklılık görülürken alt limitler için referans kitap limiti arasında anlamlı farklılık belirlendi. Referans kitaplar ve direkt yöntem çalışmalarında standardize olmayan immunoassay yöntem ve/veya cihazlarının kullanılmasından dolayı bu yöntemler arası kıyaslama doğru olarak yapılamadı. Burada, farklı yöntemlerle çalışılan vitamin B<sub>12</sub> sonuçlarını yan yana getirip yorum yapamayız.

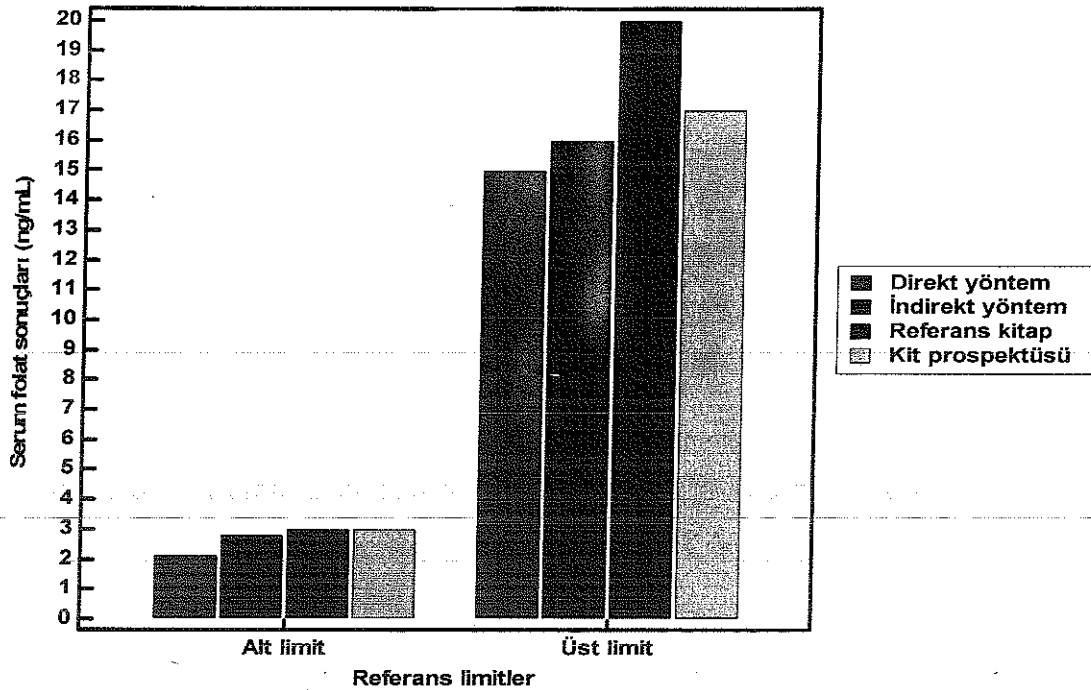
Bizim bulgularımızda serum vitamin B<sub>12</sub> için kan alma zamanlarına göre farklılık anlamlı bulunmamıştır. Sadece yaş temelinde alt ve üst referans limitlerinin belirlenmesi anlamlı bulunmuştur (Tablo 30). Her iki cinste de yaş ilerledikçe serum vitamin B<sub>12</sub> seviyelerinin yükseldiği görüldü (Şekil 36). Literatürde yaşa bağlı olarak serum vitamin B<sub>12</sub> seviyelerinin birbiriyle çeliştiği yayınlar mevcuttur (20,92).

Mesela Framingham çalışmasında yaşlılarda daha düşük serum vitamin B<sub>12</sub> seviyeleri bulunmuştur (92). İnsanda serum vitamin B<sub>12</sub> diyete bağlı olduğundan ve insan vücudunda sentezlenemediği için farklı populasyonların farklı yaşlarında farklı serum vitamin B<sub>12</sub> seviyeleri görülebilir. Çalışmamıza göre yaş ilerledikçe daha yüksek serum vitamin B<sub>12</sub> seviyeleri izlenmektedir. Klinik olarak düşüklüğü daha önemli olan serum vitamin B<sub>12</sub> için bulduğumuz alt limit değerleri 18-30, 31-50 ve 50 < yaş grupları için sırayla 150, 159, 159 pg/mL 'ydi.

### 5.3.12. Serum Folat

Serum folat düzeylerinde, kan alma zamanı açısından farklılık gözlenmezken yaş ve cinsiyete göre anlamlı farklılıklar belirlendi (Tablo 31). Sonuç olarak yaş ve cinsiyet temelinde serum folat referans aralıkları oluşturuldu.

Kaynaklarda, serum folat için alt gruplandırma görülmemektedir (20,87). Literatürde verilen referans limitlerle çalışmamızdaki erkek ve bayanlarda bütün yaş gruplarını kapsayan verilerin limitleri arasında karşılaştırma yapıldı. İndirekt referans aralık bulgularımızı referans kitap (20), direkt yöntem (88) ve kit prospektüs (81) kökenli referans aralıklarıyla karşılaştırdık. Referans kitaplarda immunoassay ölçüm yöntemi referans aralıkları bulunmasına rağmen yöntem özel referans aralıklar bildirilmemiştir. (20,87). Serum folat için dört farklı yöntemin elde ettiği referans aralıkları Şekil 25'de (erkek ve bayanlarda) gösterdik.



**Şekil 25:** Erkek ve bayanlarda serum folat için farklı yöntemlerden elde edilen referans aralıklar .

Şekil 25'e göre serum folat için indirekt yöntemin referans aralık limitiyle kit prospektüs limitleri birbirine yakındı. İndirekt yöntem referans aralıklarını diğer yöntemlerin referans aralıklarıyla RCV konseptine göre (serum folat için RCV değeri % 74) (40) kıyasladığımızda klinik olarak üst ve alt limitler açısından indirekt yöntem limitleriyle diğer yöntemlerin referans limitleri arasında anlamlı farklılık izlenmedi. Özellikle immunoassaylerde farklı cihazların harmonize edilmiş test sonuçları vermemesinden dolayı ve bizim çalışmamızda yaşa göre serum folat sonuçlarının farklı olmasından bu yöntemlerin elde ettiği referans aralıkları kıyaslama doğru olmayabilir.

Bizim bulgularımızda serum folat için kan alma zamanlarına göre farklılık anlamlı bulunmamıştır. Yaş ve cinsiyet temelinde alt ve üst referans limitlerinin belirlenmesi anlamlı bulunmuştur (Tablo 32). Her iki cinste serum folat seviyelerinde yaş ilerledikçe düzenli bir azalma veya artış gözlenmemesine rağmen yaşa göre anlamlı referans aralıklar elde edildi. Bayanlardaki serum folat düzeyleri erkeklere kıyasla daha yüksek olması çalışmamızda dikkat çekmektedir. İnsanda serum folatı

seviyeleri diyete bağılı olduğundan ve insan vücudunda sentezlenemediği için farklı populasyonların farklı yaşlarında farklı serum folat seviyeleri görülebilir. Klinik olarak düşüklüğü daha önemli olan serum folatı için erkeklerde bulduğumuz alt limit değerleri 18-30 yaş grubu için 12,2 ng/mL, 61-70 yaş arası kişiler için 16,9 ng/mL bulunmuştur. Yaş ve cinsiyet alt gruplarına göre oluşturulmuş referans aralıkların kullanımı hasta yönetiminde değerli olabilir.

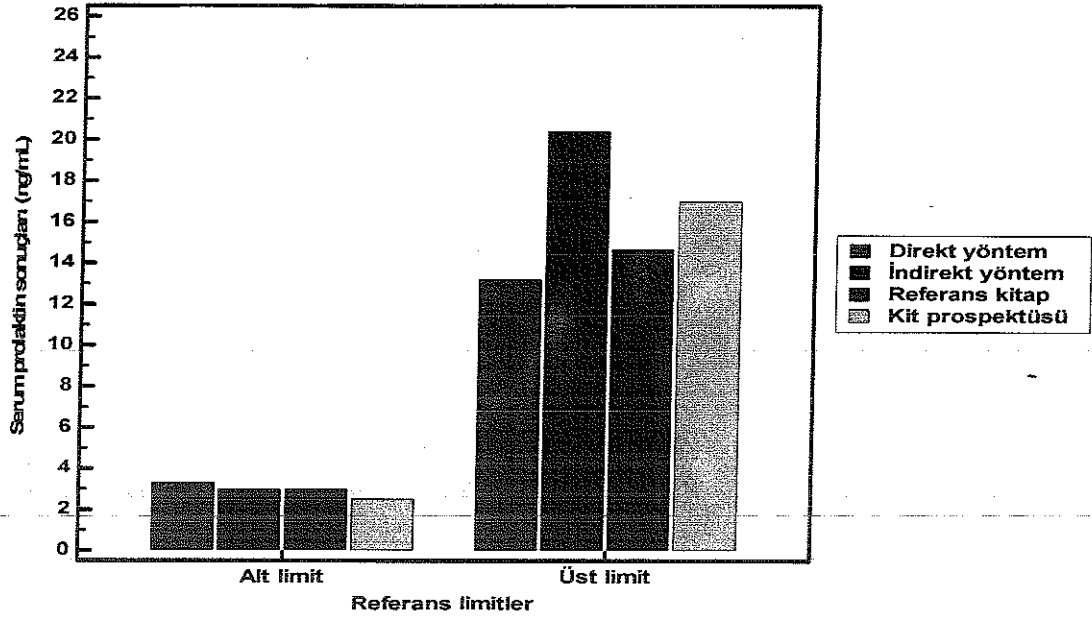
### 5.3.13. Serum Prolaktini

Serum prolaktini düzeylerinde, kan alma zamanı, yaş ve cinsiyete göre anlamlı farklılıklar belirlendi (Tablo 33). Kan alma zamanları arasında farklılık her iki cinste de anlamlı bulundu (\* $p < 0,05$ , \*\* $p < 0,01$ , \*\*\* $p < 0,01$ ). Bulgular incelenerek saat 08:00-09:00, 09:00-10:00 ve 10:00-15:00 şeklinde üç alt grup oluşturuldu. Böylelikle kan alma zamanı, yaş ve cinsiyet temelinde serum prolaktini referans aralıkları oluşturuldu.

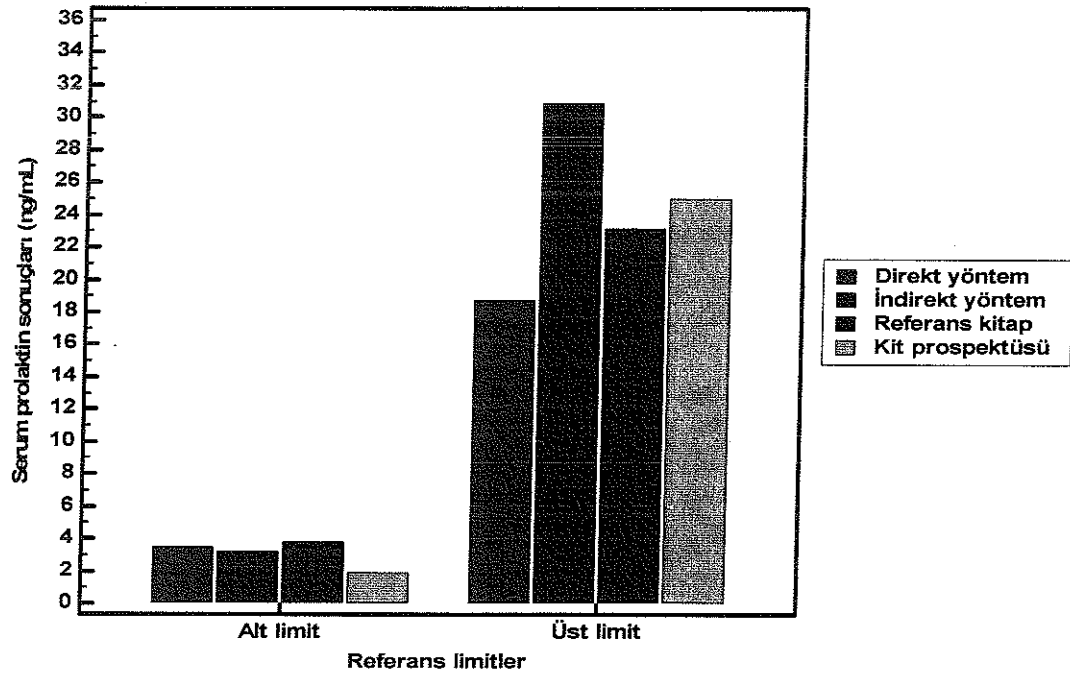
Kaynaklarda, serum prolaktini için sadece cinsiyete göre alt gruplandırma görülmektedir (20,87). Literatürde verilen referans limitlerle çalışmamızdaki erkek ve bayanlarda bütün yaş gruplarını kapsayan verilerin limitleri arasında karşılaştırma yapıldı. İndirekt referans aralık bulgularımızı referans kitap (87), kit prospektüsü (82) ve direkt yöntem (93) kökenli referans aralıklarıyla kıyasladık. Serum prolaktini için dört farklı yöntemin elde ettiği referans aralıkları Şekil 26 (erkeklerde) ve Şekil 27'de (bayanlarda) gösterdik.

Şekil 26 ve 27'ye göre serum prolaktini için üst limitler açısından indirekt yöntem referans aralık limitlerinin diğer yöntemlere ait limitlerden daha yüksek olduğu görülmektedir. İndirekt yöntem referans aralıklarını diğer yöntemlerin referans aralıklarıyla RCV konseptine göre (serum prolaktini için RCV değeri % 21) (40) kıyasladığımızda erkeklerde sadece üst limitler için indirekt yöntem limiti ile direkt yöntem ve referans kitap limitleri arasında anlamlı farklılık varken bayanlarda hem alt limitler hem üst limitler için diğer yöntem limitleriyle anlamlı farklılıklar görüldü. Ancak, bu çalışma kan alma zamanı, cinsiyet ve yaş alt gruplarının farklı referans aralıklarına sahip olduğunu göstermektedir.





**Şekil 26:** Erkeklerde serum prolaktini için farklı yöntemlerden elde edilen referans aralıkları.



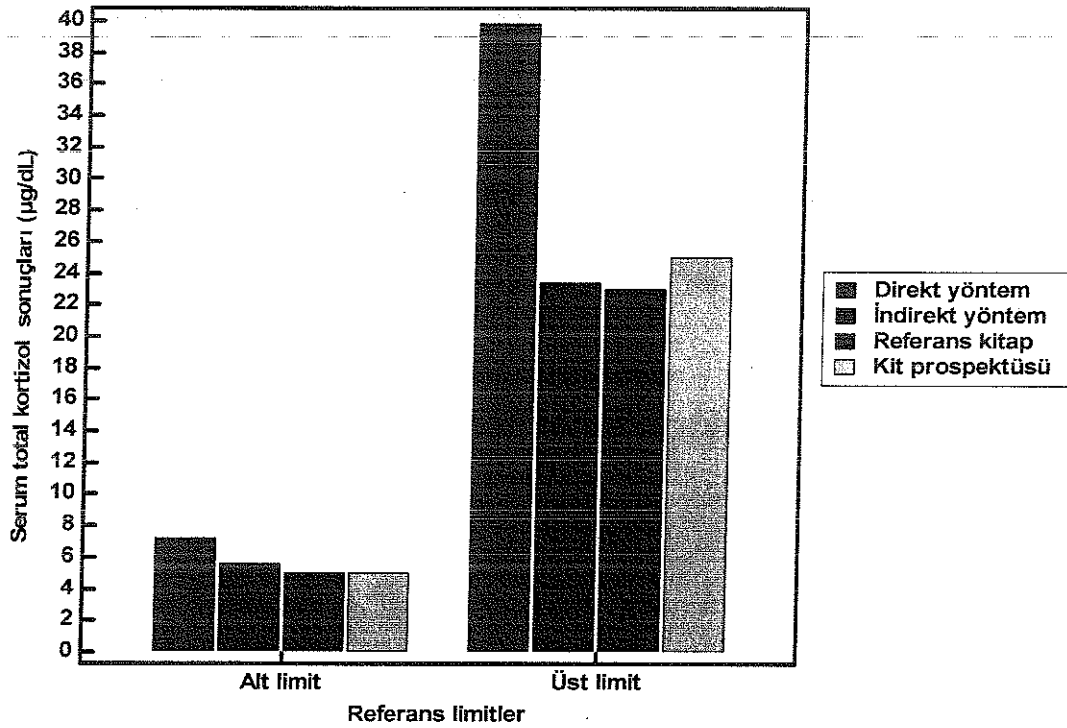
**Şekil 27:** Bayanlarda serum prolaktini için farklı yöntemlerden elde edilen referans aralıkları.

Şekil 26 ve 27'ye göre serum prolaktini için üst limitler açısından indirekt yöntem referans aralık limitlerinin diğer yöntemlere ait limitlerden daha yüksek olduğu görülmektedir. İndirekt yöntem referans aralıklarını diğer yöntemlerin referans aralıklarıyla RCV konseptine göre (serum prolaktini için RCV değeri % 21) (40) kıyasladığımızda erkeklerde sadece üst limitler için indirekt yöntem limiti ile direkt yöntem ve referans kitap limitleri arasında anlamlı farklılık varken bayanlarda hem alt limitler hem üst limitler için diğer yöntem limitleriyle anlamlı farklılıklar görüldü. Çalışma bulgularımız kan alma zamanı ve yaşa göre alt ve üst referans limitlerinin belirlenmesi anlamlı bulunmuştur (Tablo 34). Kan alma zamanına göre gün içinde genel olarak düşen değerler bulunmasına rağmen anlamlı fark saat 08:00-09:00, 09:00-10:00 ve 10:00-15:00 şeklinde belirlendi. Diurnal ritmi olan serum prolaktini, uyku sırasında seviyeleri yükselen ve sabah erken saatlerde pik yapan bir hormondur. Sabah seviyelerinde gözlenen bu yükseklik literatürle uyumludur (87). Çalışmamızda sabah seviyelerinin daha yüksek olduğu ve sonraki saatlerde düzenli bir düşme izlendiği görülmektedir (Şekil 39,40). 18-50 Yaş arası bayanlarda üst limitlerinin saat 08:00-09:00, 09:00-10:00, 10:00-15:00 için sırayla 34,3, 29,3, 32,9 ng/mL olduğu görülmektedir. Bununla beraber diyetle alınan protein, egzersiz ve stres serum prolaktin seviyelerini arttırmaktadır (20). Literatürden farklı olarak özellikle bayanlarda olmak üzere her iki cinste de yaş ilerledikçe serum prolaktin seviyelerinin düştüğü görüldü (Şekil 11). Bu yüzden kan alma zamanı, cinsiyet ve yaşa göre indirekt yöntemle bulduğumuz referans aralıkların klinisyen ve laboratuvar uzmanlarının serum prolaktin test sonuçlarını değerlendirmelerine faydası olabilir. Buna göre yöntem ne olursa olsun prolaktinin normal değerleri analiz rapor kağıdında zaman aralığı, yaş ve cinsiyete göre farklılıkları gösterecek şekilde düzenlenmelidir.

#### 5.3.14. Serum Total Kortizolu

Serum total kortizolu düzeylerinde, kan alma zamanı ve cinsiyete göre anlamlı farklılıklar belirlendi (Tablo 35). Kan alma zamanları arasında farklılık her iki cinste anlamlı bulundu (\* $p < 0,05$ , \*\* $p < 0,01$ , \*\*\* $p < 0,001$ ). Bulgular incelenerek saat 08:00-09:00, 09:00-10:00 ve 10:00-15:00 şeklinde üç alt grup oluşturuldu. Böylelikle kan alma zamanı ve cinsiyet temelinde serum total kortizolu referans aralıkları oluşturuldu.

Kaynaklarda, serum total kortizolu için sadece kan alma zamanına göre alt gruplandırma görülmektedir (20,87). Literatürde verilen referans limitlerle çalışmamızdaki erkek ve bayanları kapsayan verilerin limitleri arasında karşılaştırma yapıldı. İndirekt referans aralık bulgularımızı referans kitap (20), kit prospektüsü (83) ve direkt yöntem (94) kökenli referans aralıklarıyla kıyasladık. Kullanılan analiz yöntemlerinin belirtilmemiş olması sağlıklı karşılaştırma fırsatı vermez. Serum total kortizolu için dört farklı yöntemin elde ettiği referans aralıkları Şekil 28’de (erkek ve bayanlarda) gösterdik.



**Şekil 28:** Erkek ve bayanlarda serum total kortizolu için farklı yöntemlerden elde edilen referans aralıklar.

Şekil 28’e göre serum total kortizolu için indirekt yöntem referans aralık limitleri ile referans kitap ve kit prospektüsü limitleri birbirlerine yakın olduğu görülmektedir. İndirekt yöntem referans aralıklarını diğer yöntemlerin referans aralıklarıyla RCV konseptine göre (serum total kortizolu için RCV değeri % 65) (40) kıyasladığımızda sadece üst limitler açısından indirekt yöntem limiti ile direkt yöntem limiti arasında anlamlı farklılık bulundu. Fakat referans aralıklar arası böyle

bir karşılaştırma standardize olmayan farklı immunoassayler için uygun olmayabilir. Çalışmamızda kan alma zamanı ve cinsiyete göre serum total kortizolu sonuçlarının diğer yöntemlerden farklı olması nedenidir. Rakım farkı nedeniyle direkt yöntemle çalışılan kortizol çok yüksek bulunmuştur. Rakım arttıkça kortizol düşer. Malatya rakımı 950 m civarında olduğundan bugularımızı bu rakıma yakın yerlerdeki çalışmalarla karşılaştırabiliriz. Rakım belirtilmemişse karşılaştırma da uygun olmaz. Analiz raporlarına normallik değerleri bu rakıma göre belirlenmek zorundadır. Bu nedenle literatürle uyumlu olmasa bile indirekt referans değerlerimizin bölgesel değer taşıdığı aşikardır.

Diurnal ritmi olan serum total kortizolu uyku sırasında seviyeleri yükselen ve sabah erken saatlerde pik yapan bir hormondur. Çalışmamızda sabah seviyelerinin daha yüksek olduğu ve sonraki saatlerde düzenli bir düşme izlendiği görülmektedir (Şekil 12,13). Kan alma zamanına göre gün içinde genel olarak düşen değerler bulunmasına rağmen anlamlı fark saat 08:00-09:00, 09:00-10:00 ve 10:00-15:00 şeklinde belirlendi. Bu saatlere ait referans aralık üst limitleri erkeklerde sırayla 22,6 µg/dL, 22 µg/dL, 20,7 µg/dL iken bayanlarda sırayla 23,5 µg/dL, 21,5 µg/dL, 20,0 µg/dL olduğunu tesbit ettik. Kaynak kitaplarda ise serum total kortizolu için saat 08:00, 16:00 ve 20:00'a ait referans aralıklar bulunmaktadır (20,87). Bu saatlere ait referans aralık üst limitleri sırayla 23 µg/dL, 16 µg/dL, 12 µg/dL şeklindedir. İlave olarak çalışma bulgularımız cinsiyete göre alt ve üst referans limitlerinin belirlenmesi anlamlı bulunmuştur. Bayanlardaki seviyenin daha düşük olduğu görülmektedir. Bu yüzden kan alma zamanı ve cinsiyete göre indirekt yöntemle bulduğumuz referans aralıkların hasta bulgularını değerlendirmede yararı olabilir.

#### 5.4. Çalışmamızın Kısıtlamaları

Nihai manada lokal referans aralıklarını özel manada ise gün içi özellikle diurnal varyasyonu olan analitlerin numune alma zamanlarına göre referans aralıklarını belirleyen çalışmamızın bazı kısıtlamaları bulunmaktadır. İlk olarak referans aralık limitlerini etkileyebilen diurnal varyasyondan başka preanalitik aşamada biyolojik varyasyon, öğün alım zamanı, diyet, açlık, egzersiz, uyku gibi bazı faktörlerin dışlanamaması veya tam olarak değerlendirilememesiydi. Ayrıca

analitik aşamadaki analitik varyasyon ve ölçüm belirsizliğinin numune alma zamanları arasındaki test sonuçları farklılıklarından ayıklanamamasıydı. Bu faktörlerin her biri tek başına referans aralık analizini etkileyebilmektedir. Yine bu soruna benzer şekilde ikinci bir kısıtlama test sonuçlarının numune alma zamanlarına göre alt gruplandırmada anlamlılık seviyelerinin farklı cinsiyet ve yaş gruplarında farklı olmasıydı. Bu iki temel kısıtlama alt gruplandırmada güçlük çektiğimiz konulardandı. Genel olarak referans aralık çalışmalarında alt gruplandırma için standardize bir protokol bulunmamaktadır (14). Diğer bir kısıtlama ise uç değer analizi için uyguladığımız Box-Cox dönüşümünün veriyi her zaman için Gaussian dağılıma çevirememesi idi. İlave olarak literatürden aldığımız RCV değerleri analitik varyasyon ve kişisel varyasyona bağlı olarak değişebilmektedir. Son olarak bazı analitler için belirlediğimiz yaş ve cinsiyet alt gruplandırmaların literatürde gözlenenenden daha çok olmasıydı.

Total kortizol gibi rakıma göre değişen parametrelerin literatürlerdeki normallik değerlerinde rakım belirtilmemiş olması bulguları karşılaştırmaya engeldir. Bu, bulgularımızın farklılığı üzerinde sağlıklı tartışmayı zorlaştırır.

İndirekt yöntemi uygulayan çalışmamızın tüm bu kısıtlamalarına rağmen ve kit propektüs ve referans kitap referans aralıklarının bahsi geçen dezavantajları ve klinik laboratuvarların kaynakları düşünüldüğünde bizim elde ettiğimiz referans aralıklar tamamlayıcı, doğrulayıcı, düzeltici veya karar verici mahiyete haizdirler. Bölgesel referans aralıklar olarak kullanılabilen ve klinisyenlerin analiz sonuçlarını değerlendirmelerine yardımcı olacağı kanaatindeyiz.

## 6. SONUÇ ve TAVSİYELER

Çalışmamız 01.01.2009-01.01.2010 tarihleri arasında 1 sene içinde laboratuvarımıza gelen hasta numunelerinden toplam 14 analitin sonuçlarından müteşekkil verinin laboratuvar bilgi sisteminden transferinin yapıldığı indirekt ve aposteriori mahiyetteki referans aralık çalışmasıdır. Bu çalışma laboratuvar uzmanlarının toplam kalite yönetiminde, klinisyenlerin hasta yönetiminde sık olarak kullandığı referans aralıkları kendi laboratuvarımızda oluşturan bir çalışmadır. Laboratuvar bilgi sisteminin indirekt referans aralık tesbitine uyumlu hale getirilmesinden sonra istatistiki yöntemle elde ettiğimiz referans aralıkların bizce anlamlı iki büyük sonucu vardı:

1) Diurnal varyasyon gösteren serum demir, TSH, total kalsiyum, inorganik fosfor, prolaktin ve total kortizol analitleri için kan kabul zamanları açısından laboratuvar test sonuçları arasında anlamlı farklılıklar gözlemlendi. Bu analitlerden serum total kalsiyum hariç diğer toplam 5 analitin her birisi için belirli kan alma zamanlarına özel referans aralıklar tesbit edildi. Genellikle diurnal varyasyonu olan bu analitler için total kortizol dışında numune alma zamanına göre referans aralıklar literatürde bulunmamaktadır (17,20,87). Bundan dolayı laboratuvar uzmanları ve klinisyenlerin bu analitleri değerlendirirken gün içinde gözlenen varyasyonu ve bunun referans aralıklar üzerine etkilerini bilmeleri gerekmektedir. Serum total kalsiyum için kan alma zamanları arasında anlamlı farklılık olmasına rağmen elde edilen referans aralık limitleri birbirinin aynı olmasından dolayı bu analiz için kan alma zamanına özel referans aralıklar oluşturulmadı. Klinisyenlerin numune kabul zamanına göre sonuçların anlamlı olarak farklı çıkabileceğinin farkında olmaları oluşturduğumuz yeni referans aralıkların kullanılmasını kolaylaştırmaktadır.

2) Her bir analitin direkt yöntem, indirekt yöntem, referans kitaplardan transfer ve kit prospektüslerden transfer yoluyla elde edilen referans aralıkları ilgili analitin RCV değerleriyle kıyaslandığımızda çoğu durumda indirekt yöntem referans aralıklarımız diğer yöntemlerin referans aralıklarından anlamlı olarak farklıydı. Tablo 37 çalışmamızda tesbit edilen referans aralıklarla diğer yöntemlerin referans aralıkları arasındaki klinik olarak anlamlı farklılıkları özetlemektedir.

**Tablo 37:** RCV konseptine göre indirekt yöntem referans aralıklarının diğer yöntemlerin referans aralıklarıyla kıyaslamaların özeti.

Analitler	Direkt yöntem	Referans kitap	Kit prospektüsü
Demir	x	x	√
SDBK		◆	
Ferritin	x	x	x
TSH	√	√	√
Serbest T3	x	x	x
Serbest T4	x	x	x
Magnezyum	x	x	x
Total kalsiyum	√	√	√
Inorganik fosfor	√	√	√
PTH	√	√	√
Vitamin B12	x	x	√
Folat	√	√	√
Prolaktin	x	x	x
Total Kortizol	√	x	x

“x” klinik olarak anlamlı farklılığı, “√” referans aralıklar arası anlamlı olmayan farklılığı, “◆” değerlendirilemediğini ifade etmektedir.

Tablo 37, oluşturduğumuz referans aralıkların genellikle diğer yöntemlerinkinden anlamlı derecede farklı olduğunu göstermektedir. Buna karşılık serum TSH, total kalsiyum, inorganik fosfor, PTH ve folat için tesbit ettiğimiz referans aralıklarla diğer yöntem referans aralıkları arasında anlamlı fark görülmemiştir. Referans aralıkları indirekt yöntemle tesbit eden çalışmamız lokal referans aralıkları belirlemesi açısından da önem taşımaktadır.

Bu iki sonuçla birlikte elde ettiğimiz yeni referans aralıkların kullanılmasına yönelik tavsiyelerimiz aşağıdaki gibidir;

1. Diurnal varyasyonu olan analitlerin bilinmesi ve bu analitlere ait gün içi numune alma zamanlarına göre referans aralıkların gerekebileceğinin kabul edilmesi gerekir. Ancak, çalıştığımız bazı analitlerde zaman, yaş ve cinsiyet alt gruplandırması yapılması anlamlı bulunmamıştır. Numune alma zamanlarına göre

referans aralık, yaş ve cinsiyete göre farklılık gösteren parametrelerde klinisyenin analiz sonuçlarını değerlendirmesinde yardımcı olacağı kanaatindeyiz.

2. Direkt yöntemle herbir laboratuvarın kendi referans aralıklarını oluşturması özellikle standardize olmayan immünassay ölçüm yöntemlerinin kullanıldığı durumlarda iyi laboratuvar pratiğidir. Direkt yöntemin uygulanmadığı durumlarda indirekt örnekleme çalışmasıyla bölgesel referans aralık limitleri belirlenebilir. Malatya rakımının 1000 m civarında olması kortizol gibi rakıma göre değişen analitin bölgesel referans aralıklarının belirlenerek kullanılmasını gerekliliği çalışmamızın önemini vurgulamaktadır. Böylelikle bir kısmı belirlenen referans aralıklar hasta numunesi analiz bulgularımızın değerlendirilmesinde klinisyene yardımcı olacaktır.

3. Direkt ve indirekt yöntem için uç değer analizi ve özellikle alt gruplandırmada belirlenmiş standart prosedür, işlem, süreç veya hesaplama olmadığından klinisyenler ve laboratuvar yöneticilerinin herhangi bir kaynaktan gelen referans aralığı temkinli şekilde kabul veya reddetmeleri gerekir. Laboratuvar uzmanları her bir analite mahsus, referans aralığı etkileyebilen preanalitik, analitik ve postanalitik aşama faktörlerini detaylı olarak tanımalıdır.

4. Bu iki yöntemin uygulanmadığı durumlarda laboratuvarların referans kitap ve kit prospektüs referans aralıklarını transfer etmesi sıklıkla uygulanan bir yoldur. Fakat transfer edilecek bu referans aralıkların laboratuvar uzmanlarınca önce doğruluğunun sorgulanması sonra teyidi veya tashihi gerekir. Geçerlendirme çalışması yapıldıktan sonra bu referans aralıklar transfer edilebilir.



## 7. KAYNAKLAR

1. Silverstein. *An Approach to Medical Errors and Patient Safety in Laboratory Sciences. A White Paper*. Quality Institute Conference, Atlanta, April 13–15, 2003; 1–23.
2. Howanitz PJ, Cembrowski GS. Postanalytical quality improvement: a College of American Pathologists Q-Probes study of elevated calcium results in 525 institutions. *Arch Pathol Lab Med*. 2000;124:504–510.
3. Jensen E, Blaabjerg O, Petersen PH, Hegedu L. Sampling time is important but may be overlooked in establishment and use of thyroid-stimulating hormone reference intervals. *Clin Chem* 2007;53:2.
4. Wayne PA. How to define and determine reference intervals in the clinical laboratory; approved guideline—second edition: Clinical And Laboratory Standards Institute. 2000. NCCLS document C28-A2.
5. Solberg HE. International Federation of Clinical Chemistry, Expert Panel on Theory of Reference Values, and International Committee for Standardization in Haematology, Standing Committee on Reference Values. Approved recommendation 1986 on the theory of reference values. Part 1. The concept of reference values. *J Clin Chem Clin Biochem* 1987;25:337–42.
6. Russell S, Brinkworth A, Whitham E, H. Establishment of paediatric biochemical reference intervals. *Ann of Clin Biochem* Jul 2004; 41.
7. Katayev A, Balciza C, Seccombe DW. Establishing reference intervals for clinical laboratory test results is there a better way? *Am J Clin Pathol* 2010;133:180-186.
8. Pottel H, Vrydags N, Mahieu B, Vandewynckele E. Establishing age/sex related serum creatinine reference intervals from hospital laboratory data based on different statistical methods. *Clin Chim Act* 2008: 396;49–55.
9. Kouri T, Kairisto V, Virtanen A, Uusipaikka E, Rajamfiki A, Finneman H, Juva K, Koivula T, Nflnt V. Reference intervals developed from data for hospitalized patients: computerized method based on combination of laboratory and diagnostic data. *Clin Chem* 1994; 40;12.
10. Baadenhuijsen H, Smit J. Indirect estimation of clinical chemical reference intervals from total hospital patient data: Application of a modified bhattacharya procedure *Clin Biochem* 1985: 23, 829-839.

11. Grossi E, Colombo R, Cavuto S, Franzini C. The REALAB Project: A new method for the formulation of reference intervals based on current data. *Clin Chem* 2005: 51.
12. Toprakçı M. Hastane Laboratuvar Test Verileri Kullanılarak Klinik Testlerin Referans Aralıklarının Saptanması. Uzmanlık Tezi 2000; İstanbul.
13. Balcı Y. Laboratuvar Hasta Verileri Kullanılarak Biyokimya Testlerinde Referans Aralıkların Belirlenmesi . Uzmanlık Tezi 2006; İstanbul.
14. Kalafat H. Klinik Biyokimya Testlerinin Mersin İli'ndeki Referans Aralıklarının İndirekt Yöntemle Belirlenmesi. Uzmanlık Tezi 2008; Mersin.
15. Solberg He, Grasbeck R. Reference values. *Adv Clin Chem* 1989;27:1-79.
16. Grasbeck R, Alström T. *Reference values in laboratory medicine: The current state of the art*. Chichester1981. England: John Wiley.
17. Kaplan LA, Pesce AJ, Kazmierczak SC. *Clinical Chemistry: Theory, Analysis, Correlation*. 2006. St. Louis, MO.
18. Friedberg RC, Souers R, Wagar EA, Stankovic AK, Valenstein P. The origin of reference intervals a college of american pathologists Q-probes study of "normal ranges" used in 163 clinical laboratories. *Arch Pathol Lab Med* 2007: 131.
19. Brickell J, Arneson W. *Clinical chemistry: a laboratory perspective*. 2007. F.A.Davis Company. PA.
20. Burtis CA, Ashwood ER. *Tietz textbook of clinical chemistry and molecular diagnostics*. 2006. Fourth edition. Saunders.
21. Valenstein P. Quality management in clinical laboratories: promoting patient safety through risk reduction and continuous improvement. College of American Pathologists. 2005:99-104.
22. Cotlove E, Harris EK, Williams GZ. Biological and analytic components of variation in long-term studies of serum constituents in normal subjects. III. Physiological and medical implications. *Clin Chem* 1970: (16) 1028-32.
23. Eugene K. Haris. Some theory of reference values. I. Stratified (categorized) normal ranges and a method for following an individual's clinical laboratory values. *Clin Chem* 1975: 21, 1457-1464.

24. Jackson BR. The dangers of false-positive and false-negative test results: false-positive results as a function of pretest probability. *Clinics in Lab Med* 2008; 28:305-319.
25. Vesper W, Demers LM, Eastell R, Garnero P, Kleerekoper M, Robins P, Srivastava AK, Warnick G, Watts B, Myers L. Assessment and recommendations on factors contributing to preanalytical variability of urinary pyridinoline and deoxypyridinoline. *Clin Chem* 2002; 48; 220-235.
26. Irjala KM, Gronroos PE. Preanalytical and analytical factors affecting laboratory results. *Ann Med* 1998; 30:267-272.
27. Harris EK, Boyd JC. *Statistical bases of reference values in laboratory medicine*. New York: Marcel Dekker, 1995.
28. Fraser CG. Desirable performance standards for clinical chemistry tests. *Adv Clin Chem* 1983; 23;299-339.
29. Fraser CG. Data on biological variation: Essential prerequisites for introducing new procedures. *Clin Chem* 1994;40;1671-3.
30. Fraser CG. Biological variation in clinical chemistry: an update: collected data; 1988–1991. *Arch Pathol Lab Med* 1992; 116: 916–23.
31. Talwar DK, Azharuddin MK, Williamson C, Teoh P, McMillan C, O'Reilly J. Biological variation of vitamins in blood of healthy Individuals. *Clin Chem* 2005; 51:11 2145–2150.
32. Ricoâ CS, Alvarez V, Cava F, Garcíâ-Lario JV, Ndez AH, Nez CVJ, Minchinela J, Perich C, Simoâ MN. Current databases on biological variation: pros, cons and progress. *Scand J Clin Lab Invest* 1999; 59: 491 ± 500.
33. Mogadam M, Ahmed SW, Mensch AH, Et Al. Within person fluctuations of serum cholesterol and lipoproteins. *Arch Intern Med* 1998;150:1645-8.
34. Wesson LG. Electrolyte excretion in relation to diurnal cycles of renal function. *Medicine* 1964;43:547-92.
35. Gaw A, Murphy MJ, Cowan RA, O'Reilly DJ, Stewart MJ, Shepherd J. *Clinical Biochemistry: An Illustrated Colour second edition*. 2004: 3. Churchill Livingstone.
36. Dufour D. *Reference values in endocrinology*. In Becker K, Editor. *Principles and practice of endocrinology and metabolism*. Philedelphia. 2001. Lippincottwilliams and Wilkins; 2173.

37. Westgard JO. Statistical quality control for quantitative measurement procedures: Principles and definitions; approved guideline; Ed 3. 2006. CLSI Document.
38. Harris EK, Yasaka T. On the calculation of a "reference change" for comparing two consecutive measurements. *Clin Chem* 1983;29:25-30.
39. Fraser CG, Cummings ST, Wilkinson SP, Neville RG, Knox JD, Ho O, Macwalter RS. Biological variability of 26 clinical chemistry analytes in elderly people. *Clin Chem* 1989; 35: 783-786.
40. Ricos C, Cava F, Garcia-Lario JV, Hernandez A, Iglesias N, Jimenez CV, Minchinela J, Perich C, Simon M, M. The reference change value: A proposal to interpret laboratory reports in serial testing based on biological variation. *Scand J Clin Lab Invest* 2004; 64:175-184.
41. Solberg HE. Using a hospitalized population to establish reference intervals: Pros and cons. *Clin Chem* 1994; 40/12, 2205-2206.
42. Harris EK. Statistical aspects of reference values in clinical pathology. In: Stefanini M, Benson Es, Eds. *Prog Clin Pathol* 1981;7: 45-66. New York: Grune And Stratton.
43. Grasbeck R. Health as seen from the laboratory. In: Grasbeck R, Alström T, Eds. *Reference values in laboratory medicine*, Chichester England: John Wiley, 1981:17-24.
44. International Federation Of Clinical Chemistry, expert panel on theory of reference values, and international committee for standardization in haematology, standing committee on reference values. Approved recommendation 1986 on the theory of reference values. Part 2; Selection of individuals for the production of reference values. *J Clin Chem Clin Biochem* 1987;25:639-44.
45. Dybkaer R. Observed value related to reference values. In: Grasbeck R, Alström T, Eds. *Reference values in laboratory medicine*, Chichester England: John Wiley, 1981:17-24.
46. Nilsson SE, Evrin PE, Tryding N. Biochemical values in persons older than 82 years of age: Report from a population - based study of twins. *Scand J Clin Lab Invest* 2003;63:1-14.
47. Defining, establishing, and verifying reference intervals in the clinical laboratory. CLSI approved guideline Third Ed. 2008. CLSI. PA.

48. Solberg HE. Approved recommendation (1987) on the theory of reference values. Part 5. Statistical treatment of collected reference values. Determination of reference Limits. *J Clin Chem Clin Biochem* 1987; 25:645–56.
49. Solberg HE. Statistical treatment of reference values in laboratory medicine: Testing goodness-of-fit of an observed distribution to the Gaussian distribution. *Scand J Clin Lab Invest* 1986;46 (Suppl.184):125-32.
50. Lott JA, Mitchell LC, Moeschberger ML, Sutherland DE. Estimation of reference ranges: how many subjects are needed? *Clin Chem* 1992; 38; 648-650.
51. Horn PS. Robust quantile estimators for skewed populations. *Biometrika* 1990; 77:631.

---

52. Horn PS, Pesce AJ. *Reference Intervals: A User's Guide*. 2005. Washington Dc. AACC Pres.
53. Harris EK. Statistical aspects of reference values in clinical pathology. *Prog Clin Pathol*. 1981;8:45-66.
54. Dixon WJ. Processing data for outliers, *Biometrics* 9:74, 1953.
55. Reed AH, Henry RJ, Mason WB. Influence of statistical method used on the resulting estimate of normal range. *Clin Chem* 1971;17: 275-284.
56. Hawkins DM. *Identification of Outliers*. 1980. London. Chapman and Hall,
57. Solberg HE, Lahti A. Detection of outliers in reference distributions: Performance of horn's algorithm. *Clin Chem* 2005;51:12 2326–2332.
58. Lahti A, Hyltoft-Petersen P, Boyd JC. Impact of subgroup prevalences on partitioning of gaussian- distributed reference values. *Clin Chem* 2002;48 1987-99.
59. Harris EK, Boyd JC. On dividing reference data into subgroups to produce separate reference ranges. *Clin Chem* 1990; 36, 265-270.
60. Lahti A, Petersen PH, Boyd JC. Objective criteria for partitioning Gaussian-distributed reference values into subgroups. *Clin Chem* 2002; 48:338-52.
61. Fuentes-Arderiu X, Ferre'-Masferrer M. On the reliability of published reference limits. *Eur J Clin Chem Clin Biochem* 1996;34:143.
62. Arzideh F, Wosniok W, Haeckel R. A plea for intra-laboratory reference limits. Part 2 a bimodal retrospective concept for determining reference limits from intra-laboratory data bases demonstrated by catalytic activity concentrations of enzymes. *Clin Chem Lab Med* 2007; 45:1043–57.

63. Arzideh F, Brandhorst G, Gurr E. An improved indirect approach for determining reference limits from intra-laboratory data bases exemplified by concentrations of electrolytes. *J Lab Med* 2009; 33:52–66.
64. Arzideh F, Wosniok W, Haeckel R. Reference limits of plasma and serum creatinine concentrations from intra-laboratory data bases of several german and italian medical centres comparison between direct and indirect procedures. *Clin Chim Acta* 411 2010: 215–221.
65. Concordet A, Braun GJP, Trumel C. A new approach for the determination of reference intervals from hospital-based data. *Clin Chim Acta* 2009: 405; 43–48.
66. Masferrer M, Arderiu X, Puchal R. Indirect reference limits estimated from patients results by three mathematical procedures. *Clin Chim Acta* 1999: 279; 97–105.
67. Faulkner WR, Meites S. *Geriatric Clinical Chemistry: Reference values*. 1997 Washington: AACC Pres.
68. International federation of clinical chemistry, expert panel on theory of reference values, and international committee for standardization in haematology, standing committee on reference values. Approved recommendation 1986 on the theory of reference values. Part 6. Presentation of observed values related to reference values. *J Clin Chem Clin Biochem* 1987;25:657-62.
69. Solberg HE. Presentation of observed values in relation to reference values. *Bull Mol Biol Med* 1983;8:21-6.
70. A-GENT VP System Iron Package Insert. Abbott Laboratories; October 2009. In Higgins T. Novel chromogen for serum iron determinations. *Clin Chem* 1981; 27.9:1619.
71. UIBC Package Insert. Abbott Laboratories; July 2009.
72. Ferritin Package Insert. Siemens; April 2008. In Borque L, Rus A, Cura J, Maside C, Escanero J. Automated quantitative nephelometric latex immunoassay for determining ferritin in human serum. *J Clin Lab Anal.* 1992;6:239-44.
73. Third Generation TSH, Immulite 2000. PIL2KTS-12, 2005-12-30.
74. Serbest T3. Immulite 2500. PIL5KF3-4, 2005-07-12.
75. Serbest T4. Immulite 2500. PIL5KF4-3, 2005-04-05.

76. Magnesium Package Insert. Abbott Laboratories; October 2009. In Burtis CA, Ashwood ER, editors. *Tietz Fundamentals of Clinical Chemistry, 3th ed.* Philadelphia, PA: WB Saunders; 1999: 1825.
77. Calcium Package Insert. Abbott Laboratories; January 2009. In Burtis CA, Ashwood ER, editors. *Tietz Fundamentals of Clinical Chemistry, 5th ed.* Philadelphia, PA: WB Saunders; 2001:800.
78. Phosphorus Package Insert. Abbott Laboratories; February 2009. In Henry JB. *Clinical Diagnosis and Management by Laboratory Methods, 19th ed.* Philadelphia, PA: WB Saunders; 1996:1453.
79. Intact PTH. Immulite 2500. PIL5KPP-5, 2005-12-30.
80. Vitamin B12. Immulite 2500. PIL2KVB-25, 2008-05-02.
81. Folat. Immulite 2500. PIL2KFO-18, 2007-11-20.
82. Prolaktin. Immulite 2000. PIL2KPR-18, 2008-12-04.
83. Total Kortizol. Immulite 2000. PIL2KCO-14, 2005-04-05.
84. Nuttin PA, Main DS, Fischer PM. Toward optimal laboratory use: Problems in laboratory using in primary care. *JAMA* 1996; 275:635-639.
85. Howanitz PI. From start to finish, how accurate are laboratory results? *CAP Today* Jul 1994:41.
86. Pocock SJ, Ashby D, Shaper AG, Walker M, Broughton G. Diurnal variations in serum biochemical and haematological measurements. *Clin Pathol* 1989;42:172-179.
87. Wu HBA. *Tietz Clinical Guide To Laboratory Tests, Fourth Edition* 2006. Saunders. CA.
88. İlçöl YÖ, Aslan D. Bursa İlinde Sağlıklı Bireylerde Kan Biyokimyası Profili Referans Aralıklarının Saptanması. *Türk Biyokimya Dergisi* 2004; 29 (2); 183-192.
89. Russell W, Harrison RF, Smith N, Darzy K, Shalet S, Weetman AP, Ross RJ. Free triiodothyronine has a distinct circadian rhythm that is delayed but parallels thyrotropin levels. *Clin Endocrinol Metab* 2008, 93(6):2300–2306.
90. Fisher DA. Physiological variations in thyroid hormones: Physiological and pathophysiological considerations. *Clin Chem* 1996: 42:1135-139.
91. Widmaier EP, Raff H, Strang KT. (Çeviri ed. Demirgören S). *Vander insan fizyolojisi. 10. Baskı* 2010. Güven Kitapevi.

92. Lindenbaum J, Rosenberg IH, Wilson PW, Stabler SP, Allen RH. Prevalance of Cobalamine Deficiency in The Framingham Elderly Population. *Am J Clin Nutr* 1994; 60:2-11.
93. Beltran L, Wilson F, McKenna J, Kavanagh L, Smith T. Serum total prolactin and monomeric prolactin reference Intervals determined by precipitation with polyethylene glycol: Evaluation and validation on common immunoassay platforms. *Clin Chem* 2008; 54:101673–1681.
94. Yatscoff W, Chapelsky L, Morrish D. Analytical and clinical evaluation of an automated cortisol assay on the ACS:180. *Clin Biochem* 1996; 29; 4; 315-319.